

修 士 論 文 の 和 文 要 旨

研究科・専攻	電気通信大学大学院電気通信学研究科量子・物質工学専攻 博士前期課程		
氏 名	三井 翔平	学籍番号	0833046
論 文 題 目	<i>Geobacillus kaustophilus</i> 由来 PurH の結晶構造解析		
<p>要 旨</p> <p><目的></p> <p>プリンヌクレオチド生合成系は 5-ホスホリボシルピロリン酸 (PRPP) を出発物質として、イノシン酸 (IMP) を経由し、アデニン酸 (AMP) とグアニン酸 (GMP) を合成する全部で 14 の反応からなる。9 および 10 番目の反応にそれぞれ関与する AICAR ホルミルトランスフェラーゼ (AICAR Tfase) および IMP シクロヒドラーゼ (IMPCH) は、1本のポリペプチドからなる二機能酵素であり、遺伝産物記号で PurH と略称される。AICAR Tfase が 10-ホルミルテトラヒドロ葉酸のホルミル基を AICAR に転移して FAICAR を生成し、次いで、IMPCH が FAICAR を脱水閉環して IMP を合成する。また、FAICAR とキサントシンーリン酸 (XMP) の構造が類似することから、この酵素は生合成系の下流に位置する XMP による拮抗阻害を受ける。これまでに、ヒトの PurH (HsPurH)、ニワトリの PurH (GgPurH) および好熱菌 <i>Thermotoga maritima</i> の PurH (TmPurH) の立体構造が決定されている。本研究では、好熱菌 <i>Geobacillus kaustophilus</i> の PurH (GkPurH) の立体構造解析を行い、他生物種の PurH と構造比較および活性部位の比較を行うことを目的とした。</p> <p><方法・結果></p> <p>結晶化用タンパク質は、タンパク 3000 プロジェクト代謝系グループにより提供を受けた。SPring-8 BL26B2 にて回折データの測定を行って頂いた結果、最大分解能 2.08 Å で回折データを取得した。arpwarp によってモデルの再構築を行ったのち、Coot によるモデルの修正および Refmac と CNS による構造精密化を行った。その結果、R 値が 16.2%、freeR 値が 21.9% となり、活性部位に XMP と FAICAR が結合していることも確認した。結晶化の際には XMP しか加えていないので、FAICAR は精製の段階から結合していた可能性が考えられる。GkPurH と GgPurH の比較を行った結果、AICAR Tfase、IMPCH 各ドメインの folding はおおむね同じであったが、GkPurH の AICAR Tfase ドメインは GgPurH のそれに比べてかなりコンパクトになっていた。また、ドメイン間の配置は大きく異なっており、二量体の対称軸の回りに約 120° 回転していることがわかった。</p> <p>また MD 解析を行った結果、ドメインを繋ぐヒンジ領域にコンフォメーション変化が起きていないことが分かった。</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;">  <p style="font-size: small;">AICAR (ribose-5-P) + 10-f-THF → FAICAR (ribose-5-P) + THF (catalyzed by AICAR transformylase)</p> <p style="font-size: small;">FAICAR + H₂O → IMP (ribose-5-P) (catalyzed by IMP cyclohydrolase)</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p style="font-size: small;">AICAR Tfase</p> <p style="font-size: small;">IMPCH</p> </div> </div>			