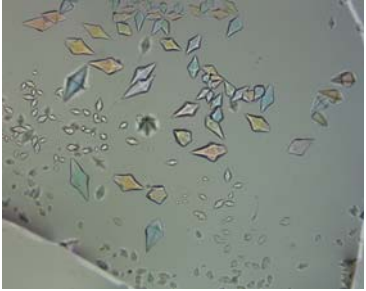


修士論文の和文要旨

大学院電気通信学研究科	博士前期課程	量子・物質工学 専攻
氏名	奥田 健司	学籍番号 0533014
論文題目	好熱性古細菌プリンヌクレオチド生合成系酵素 PurAの立体構造解析	
<p><序論></p> <p>プリンヌクレオチド生合成系は、全部で14の反応から成っており、その中には類似反応が複数存在する。例えば、第7段階の反応を触媒するSAICAR synthetase (PurC)、第11段階の反応を触媒するAdenylosuccinate synthetase (PurA)はともにアスパラギン酸 (Asp)を用いたアミノ化反応を行なう。これらのアミノ酸配列を比較すると類似性が12.5%と低いので、立体構造を解析して比較し、反応の類似性との関連があるか調べてみることは意味のあることである。</p> <p>研究対象であるPurAは、GTPのエネルギーを利用してIMPとAspからアデニロコハク酸を合成する反応を触媒する。大腸菌酵素において、基質が全部存在する場合に二量体を形成し、活性部位の構造的な環境が整うことが知られている。</p> <p>今回はPurAの立体構造決定を目標に、<i>Sulfolobus tokodaii</i>由来のPurA (StPurA)の精製とX線結晶構造解析を行った。また、<i>Geobacillus kaustophilus</i>由来のAIR(Aminoimidazole ribonucleotide) synthetase (GkPurM)の初期構造と電子密度マップからの精密化による構造決定も行ったので、それについても報告する。PurMはATPのエネルギーを利用して、FGAMからAIRを合成する反応を触媒する。</p> <p><実験方法></p> <p>(1) StPurA</p> <p>大量発現させた菌体を破砕して得た粗抽出液から、HPLCにより精製を行った。酵素活性をIMPの吸光度変化により調べた。精製したPurA溶液を用いて、ハンギングドロップ蒸気拡散法により結晶化を行った。得られた結晶を用い、クライオ条件下でX線回折データ収集を行なった。</p> <p>(2) GkPurM</p> <p>ADPとの共結晶から得られた初期構造と電子密度マップからプログラム XtalViewを用いてモデル構造の修正を行い、プログラムcns1.1を用いてシミュレーションや温度因子の精密化を行なった。</p> <p><結果></p> <p>(1)StPurA</p> <p>①HPLCによる精製を行い、7.27 mg/ml, 280 μlのタンパク質溶液を得た。また、タンパク質溶液において、酵素活性を確認することができた。</p> <p>②2.0 M NaCl, 0.1 M 酢酸Na (pH4.6) (図1)等の4つの条件で結晶化に成功した。</p> <p>③分解能3.5Åの回折像を得られたが、格子が大きく、解析が困難であった。他の結晶化条件で回折実験を行う必要がある。</p> <p>(2)GkPurM</p> <p>構造精密化を行い、最終的なR値は0.24であった。</p>		
		
		図1 StPurAの結晶