

## *Mycobacterium avium* 由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素の N 末端削除変異体の立体構造解析

### Crystal structure of the N-terminal deletion mutant of diadenosine polyphosphate phosphorylase from *Mycobacterium avium*

森茂太郎\*

国立感染症研究所, 細菌第二部 〒208-0011 武蔵村山市学園 4-7-1

Shigetaru MORI

Bacteriology II, National Institute of Infectious Diseases,

Gakuen 4-7-1, Musashimurayama, 208-0011, Japan

#### 1 はじめに

これまでに *Mycobacterium avium* 由来 MAV\_348 タンパク質について詳細な機能解析を行い、本タンパク質が結核菌由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素 (MtAPA) と同様に、diadenosine polyphosphate を加リン酸分解するヌクレオチド加リン酸分解酵素 (MaAPA) であることを明らかにした [1]。さらにゲルろ過カラムを用いた解析から、MaAPA は MtAPA と同様に溶液中で 4 量体を形成していることを示した。これまでに MtAPA の詳細な機能構造相関解析の結果から、MtAPA が結晶中でも特徴的な 4 量体構造を形成していること、並びに 4 量体構造が基質の結合に重要であることを明らかにしている [2]。そのため MaAPA においても同様に、4 量体構造が基質結合部位の形成に重要な役割を果たしていることが予想された。そこで MaAPA の詳細な基質結合部位の解析を行うため、立体構造決定を試みた。しかしながら、MaAPA の全長では X 線結晶構造解析に適した結晶が得られなかった。そこで、2 次構造予測において disorder 領域として予想された N 末端部分 (19 アミノ酸残基) を削除した変異体 (Ndel\_MaAPA) を作製して結晶化を行うことによって、X 線結晶構造解析に適した結晶を得ることができた。

#### 2 実験

これまでに得られた Ndel\_MaAPA の回折データを用いて、MtAPA の構造をテンプレートとした分子置換法による立体構造の決定を行った。なお、分子置換、モデルの構築、及びモデルの精密化には、Molrep、Coot、Refmac5、及び Phenix の各プログラムを用いた。

#### 3 結果および考察

分解能 3.00 Å で、Ndel\_MaAPA の立体構造を決定した (Table 1)。結晶中の立体構造には、スペルミンとペンタンエチレングリコールが含まれていた。ま

た、結晶中でも Ndel\_MaAPA は四量体を形成していた。現在、Ndel\_MaAPA の詳細な基質結合部位の解析を進めるとともに、Ndel\_MaAPA の立体構造とこれまでに決定した MtAPA の立体構造の比較を行っている。

Table 1 Ndel\_MaAPA の立体構造決定に係る統計値 (括弧内の値は最終分解能シェルに対する値)

Resolution range (Å)	24.62 - 3.00 (3.11 - 3.00)
Completeness (%)	89.18
No. of reflections, working set	16776 (1029)
No. of reflections, test set	861 (50)
Final $R_{\text{cryst}}$	0.2087 (0.2192)
Final $R_{\text{free}}$	0.2664 (0.3402)
No. of non-H atoms	
Protein	4453
Ligand	88
Water	125
Total	4666
R.m.s. deviations	
Bonds (Å)	0.012
Angles (°)	1.57
Average $B$ factors (Å <sup>2</sup> )	38.55
Protein	38.69
Ligand	38.67
Water	33.63
Ramachandran plot	
Favoured regions (%)	93.98
Additionally allowed (%)	4.93
Outliers (%)	1.09

#### 参考文献

- [1] N. Honda, S. Mori *et al.*, Protein. Expr. Purif. 112 (2015) 37-42.  
[2] S. Mori *et al.*, J. Mol. Biol. 410 (2011) 93-104.

\* mshige@niid.go.jp