

ユーズグループ:タンパク質結晶構造解析

高度好塩菌 *Haloarcula quadrata* 由来ヌクレオチド二リン酸キナーゼの X 線結晶構造解析

○山村 昭裕¹、市村 武文¹、亀倉 正博²、水木 徹³、宇佐美 論³、牧野 司¹、大塚 淳¹、

宮園 健一¹、岡井 公彦¹、永田 宏次¹、田之倉 優¹

(¹東大・院農生科・応生科、²好塩菌研究所、³東洋大・バイオナノ研セ)

【背景と目的】高度好塩菌 *Haloarcula quadrata* と *Haloarcula sinaiiensis* 由来のヌクレオチド二リン酸キナーゼ (NDK-q, NDK-s) は、共に全長 154 アミノ酸残基であり、1 残基 (NDK-q は Arg31、NDK-s は Cys31) を除いて同一のアミノ酸配列を有している。しかし、至適 NaCl 濃度は NDK-q は 1 M、NDK-s は 2 M と大きく異なっていた。そこで本研究では、異なる 1 残基が至適 NaCl 濃度の違いにどのように寄与しているかを、構造学的に明らかにすることを目的とした。

【方法と結果】NDK-q の結晶化を行い、高エネルギー加速器研究機構 PF-AR NW12 ビームラインで回折データを取得した。分子置換法により 2.6 Å 分解能の立体構造を決定したところ、NDK-q の Arg31 が 6 量体の接触面に存在し、6 量体構造を安定化していることが明らかとなった。一方、NDK-s では 31 番目のアミノ酸残基が Cys であり、6 量体界面の相互作用が減少していた。そこで、様々な NaCl 濃度のバッファを用い超遠心分析及びゲルろ過を行ったところ、NDK-q では低 NaCl 濃度下でも 6 量体を形成していたのに対し、NDK-s は 1 M 以下の低 NaCl 濃度で 2 量体に解離することが確認できた。また、CD 測定により、6 量体の NDK-q と NDK-s のスペクトルが同一であるのに対し、2 量体の NDK-s は異なるスペクトルを有することが明らかになった。さらに、2 量体に解離した NDK-s の活性は、6 量体の約 50% まで低下していた。以上の結果より、NDK-s では 6 量体界面の相互作用が弱いため低塩濃度下で 6 量体が 2 量体に解離し、低活性型へと構造変化することが、NDK-q と NDK-s の至適塩濃度が異なる原因であることが示された。