

中度好塩性細菌由来のヌクレオシド・ニリン酸キナーゼの立体構造と機能

米澤 悌¹、岡崎 伸生¹、新井 栄輝¹、玉田 太郎¹、
徳永 廣子²、石橋 松二郎²、徳永 正雄²、黒木 良太¹
(¹原子力機構・量子ビーム² 鹿大農・生物資源)

ヌクレオシドニリン酸キナーゼ(NDK)は、あらゆる生物に保存されたタンパク質であり、いくつかのNDKについては結晶構造解析もされている。これまで知られているNDKは共通構造をもっており、いずれもオリゴマー構造を形成している。グラム陰性細菌由来のものは基本2量体が2つ集まった4量体、真核生物および古細菌由来のものは3つ集まった6量体などの会合構造をとることが知られている。我々は、中度好塩菌 *Halomonas* sp. 593 株由来NDK (HaNDK) が溶液中で活性2量体を取り、その会合構造が Glu134 の Ala への変異によって4量体構造に変化することを報告した[1]。この会合構造の変化を構造生物学的に理解するために、野生型および E134A 変異型 HaNDK を大腸菌で大量発現させ、精製後、X線結晶構造解析を行った。回折実験は Photon Factory の BL6A において実施し、野生型 HaNDK の結晶は異なる2つの晶系 ($R3$ 、 $C2$) として析出しており、それぞれ 2.3 Å、2.7 Å の分解能で立体構造を決定した。また E134A 変異体についても異なる2つの晶系 ($C2$ 、 $P2_1$) として析出しており、それぞれの構造を 2.3 Å、2.5 Å 分解能で決定した。野生型 HaNDK はこれまでの活性型 NDK 会合構造としては例のない2量体であるのに対し(左図)、E134A 変異型 HaNDK の全体構造は、構造解析されたグラム陰性菌 *Myxococcus* 由来 NDK (MxNDK) と似た2量体構造をとることを立体構造解析から確認できた(右図)。MxNDK および E134A HaNDK の4量体会合接触面の領域において、野生型 HaNDK は 134、135、137 番目に特徴的なグルタミン酸の連続領域がある。これらの残基のうち、E134、E137 が会合接触面をむいており、これらのマイナス荷電の反発で4量体構造形成を妨げることが示された。

[1] Tokunaga, H *et al.*, (2008) FEBS Lett., 582, 1049-1054

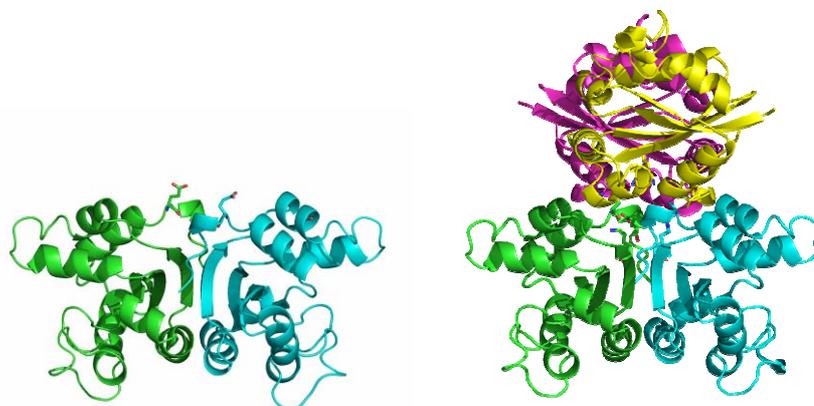


図. 野生型および変異型 HaNDK の会合構造。

(左) 野生型 HaNDK の2量体構造。(右) 変異体 HaNDK (E134A) の4量体構造。