

## 超好熱始原菌の新規炭酸固定系を構成する リボース-1,5-ニリン酸イソメラーゼの結晶構造解析

○中村 顕<sup>1</sup>, 藤橋 雅宏<sup>1</sup>, 西場 洋介<sup>1</sup>, 吉田 昭介<sup>2</sup>, 矢野 歩<sup>2</sup>,  
跡見 晴幸<sup>2</sup>, 今中 忠行<sup>3</sup>, 三木 邦夫<sup>1</sup>

<sup>1</sup>京大・院理・化学, <sup>2</sup>京大・院工・合成/生物科学, <sup>3</sup>立命館大・生命科学・生物工学

近年, 超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 において, AMP Phosphorylase, リボース-1,5-ニリン酸イソメラーゼ (*Tk*-R15P isomerase) および Type III Rubisco によって構成される余剰 AMP の代謝を伴う新規炭酸固定経路が発見された. AMP は AMP Phosphorylase によってリボース-1,5-ニリン酸へと変換された後, 本研究の対象である *Tk*-R15P isomerase が触媒する aldose-ketose 異性化反応によって Rubisco の基質であるリブロース-1,5-ニリン酸が合成される. リボース-1,5-ニリン酸は, リボース環 1 位の炭素がリン酸化されており, 既知の糖異性化反応に見られるような開環機構が適用できないことから, 本酵素はそれとは異なる機構で基質の異性化反応を触媒すると考えられる. 我々は *Tk*-R15P isomerase による糖異性化反応の分子機構を詳細に解明することを目的として, 本酵素の X 線結晶構造解析を行った.

*Tk*-R15P isomerase の結晶構造はセレノメチオニン置換体結晶を用いた SAD 法により 2.5 Å 分解能で決定した. *Tk*-R15P isomerase とアミノ酸配列の相同性が高いタンパク質には, 翻訳開始因子 eIF-2B やメチオニン再生経路の 5-メチルチオリボース-1-リン酸イソメラーゼなどがあるが, これらは生理学的二量体を形成する. 一方で *Tk*-R15P isomerase は特徴的な六量体を形成することがゲル濾過クロマトグラフィー解析の結果から示唆されるとともに, 結晶中においては相同タンパク質に見られるような二量体が疑似三回対称で関係づけられた六量体を形成していることを明らかにした. *Tk*-R15P isomerase 六量体の各サブユニットは二つのドメインから構成されており, ドメイン間に相当するサブユニット分子中央には, 強く正に帯電し, 溶媒に露出したクレフトが存在しており, ここに基質が結合することが予想される. この基質結合部位は相同タンパク質中では二つのドメイン間に埋没している. この基質結合部位環境の違いはドメイン間をつなぐ  $\alpha$ -helix の湾曲率と関連があると考えられる.

現在, 基質との複合体結晶構造解析が進行中である.