

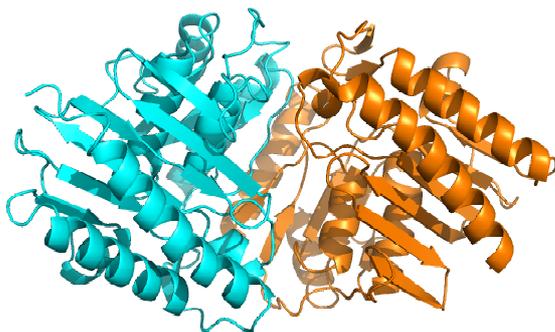
## イネ由来イノシールモノフォスファターゼの X線結晶構造解析

門間 充、藤本 瑞・農業生物資源研究所

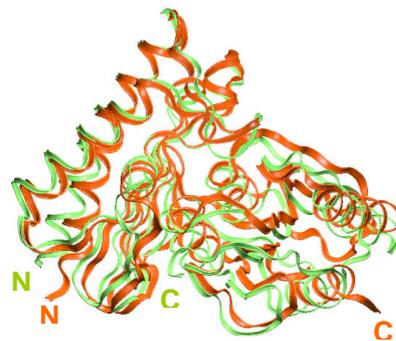
イノシールはグルコース起源の糖アルコールであり、高等生物においては細胞構成成分やシグナル伝達系に関与するイノシールリン酸類の細胞内プールとして重要である。植物においては、生長や細胞機能発現——細胞壁糖成分の生合成、オーキシンの貯蔵、ストレス耐性など——に重要な役割を担うとされ、さらに最近ビタミン C の生合成にも関与することが報告されている。イノシールはグルコースを出発物質とし、グルコース6-リン酸、イノシール1-リン酸を経て生合成されるが、最終段階の脱リン酸化を司るのがイノシールモノフォスファターゼ (IMPase) である。今回、我々はイネ由来 IMPase (OsIMPase) の結晶構造を 1.8 Å 分解能で決定したので、これまでに報告のあるヒト由来酵素との構造比較を中心に報告する。

イネ完全長cDNA ライブラリーより取得した IMPase 遺伝子を大腸菌で大量発現後精製し、結晶化に供するサンプルを得た。既製キットによる結晶化スクリーニングを行った結果、PEG を沈殿剤とするいくつかの条件で結晶が出現した。ハンギングドロップ法にて最適化を行った結果、30% PEG4000 を沈殿剤とする条件で回折実験に適した結晶を得た。データの取得は Photon Factory BL-6A において行い、立体構造は既知ヒト由来 IMPase (PDB code 2BJI) をモデルとした分子置換法により決定した。

得られた結晶は空間群  $C2$  ( $a=119.4$ ,  $b=58.4$ ,  $c=78.2$  Å,  $\beta=106.18^\circ$ ) に属し、非対称単位に2分子の IMPase が存在した。OsIMPase は分子量が約 29,000 のモノマー酵素であり、ヒト由来のものとアミノ酸配列において約 40% 以上の相同性があり、今回決定した全体構造にはヒト由来の酵素と高い類似性がみられた。



Overall Structure of OsIMPase



OsIMPase (orange) and 2BJI