

## 積み荷タンパク質レセプター Emp46p および Emp47p の糖鎖認識ドメインの結晶構造

佐藤匡史<sup>1</sup>, 佐藤 健<sup>2,3</sup>, 山下克子<sup>4,5</sup>, 山田悠介<sup>1</sup>, 五十嵐教之<sup>1</sup>, 加藤龍一<sup>1</sup>,  
中野明彦<sup>2,6</sup>, 若槻壮市<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 高エネルギー・物構研・構造生物学研究センター, <sup>2</sup> 理化学研究所・中野生体膜研究室, <sup>3</sup> 科学技術振興事業機構さきかけ,  
<sup>4</sup> 東京工業大学・イノベーション研究推進体, <sup>5</sup> 科学技術振興事業機構 CREST, <sup>6</sup> 東京大学大学院・理学系研究科

### Crystal Structures of the Carbohydrate Recognition Domain of Ca<sup>2+</sup>-independent Cargo Receptors Emp46p and Emp47p

Tadashi Satoh<sup>1</sup>, Ken Sato<sup>2,3</sup>, Katsuko Yamashita<sup>4,5</sup>, Yusuke Yamada<sup>1</sup>, Noriyuki Igarashi<sup>1</sup>, Ryuichi Kato<sup>1</sup>, Akihiko Nakano<sup>2,6</sup>  
and Soichi Wakatsuki<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Structural Biology Research Center, Photon Factory, Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization. <sup>2</sup>Molecular Membrane Biology Laboratory, RIKEN Discovery Research Institute. <sup>3</sup>PRESTO, Japan Science and Technology Agency. <sup>4</sup>Innovative Research Initiatives, Tokyo Institute of Technology, <sup>5</sup>CREST, Japan Science and Technology Agency. <sup>6</sup>Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, University of Tokyo

#### 1. はじめに

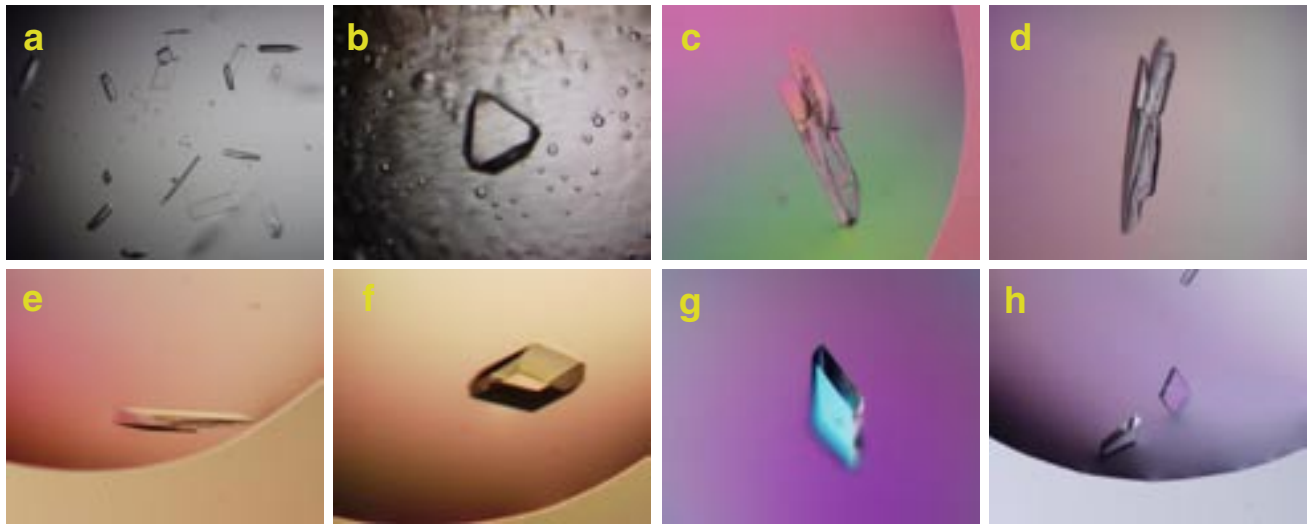
細胞の中には膜によって仕切られた細胞内小器官（オルガネラ）があり、それぞれのオルガネラは専門の機能を担っている。これらオルガネラは「輸送小胞」を介して、相互に積み荷（タンパク質や脂質）のやりとりをしている。この輸送小胞による積み荷タンパク質の輸送は、厳密にコントロールされていて、送り手側のオルガネラに留まるべきタンパク質と受け手側のオルガネラへと送り出されるタンパク質の選別が行われている。オルガネラの膜を貫通している膜タンパク質は、膜の細胞質側に局在している輸送小胞と直接結合でき、選別・輸送される [1]。一方、細胞質側の領域を持たない可溶性のタンパク質の選別・積み込みは、積み荷タンパク質と輸送小胞を同時に結合して繋ぐ膜貫通型の積み荷タンパク質レセプターが担っている [2]。

小胞体で生合成されてくるタンパク質の多くは N 型糖鎖修飾を受けるが、最近、N 型糖鎖と輸送小胞への選別には密接な関係があることがわかってきた。すなわち、積み荷タンパク質の糖鎖を荷札として、選別・積み込みを行う小胞体の内腔に糖鎖認識ドメイン (Carbohydrate Recognition Domain; CRD) を持つ積み荷タンパク質レセプター VIP36 および ERGIC-53 が見出された [3]。また出芽酵母 *Saccharomyces cerevisiae* においても、ERGIC-53 のホモログとして Emp46p および Emp47p が見出され、これらタンパク質がヘテロオリゴマーを形成し、積み荷糖タンパク質の輸送を担っていることが明らかにされた [4,5]。近年、ERGIC-53 の遺伝子変異により、糖タンパク質である血液凝固因子（第 V 因子および第 VIII 因子）の小胞体からゴルジ体への輸送に機能的障害を生じ、血友病と同様の出血性症状を呈する疾病を引き起こすことが明らかにされた [6]。従って、これら積み荷タンパク質レセプターの立体構造研究は、糖タンパク質輸送に関わる疾患についての理解を深め、最終的にはその治療の道へと繋げるための重要な課題の一つである。これまでにラット由来 ERGIC-53 の Ca<sup>2+</sup> 結合型および非結合型の構造が明らかにされてい

るが [7,8]、これら積み荷タンパク質レセプターと積み荷糖タンパク質および糖鎖との複合体構造は解析されていない。高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所の若槻壮市教授を中心とする構造生物学研究センターのグループは、理化学研究所兼東京大学の中野明彦教授、東京工業大学の山下克子教授のグループとの共同研究で、積み荷タンパク質レセプター Emp46p と Emp47p のそれぞれの CRD の高分解能結晶構造解析に成功した [9]。本稿では、引用文献 [9] では述べなかった高分解能を持つ結晶が得られるまでの経緯なども併せて、ユニークな Ca<sup>2+</sup> 非依存性の積み荷タンパク質レセプター Emp46p および Emp47p について紹介する。

#### 2. Emp46p および Emp47p の CRD の結晶化、回折データ収集および構造決定

Emp46p および Emp47p の CRD は、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として大腸菌で発現させ、各種クロマトグラフィーにより精製を行った。結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法で行った。発現領域は、Emp46p は 1-251 残基、Emp47p は 1-254 残基である。結晶はほぼ同時期に得られ、Emp46p は薄い板状のもろい結晶で (Fig. 1a)、Emp47p はバイピラミッド型の結晶であった (Fig. 1b)。Emp47p の位相は、SPRING-8 BL41XU を用いて、2.00Å 分解能で SeMet 置換体結晶を用いた MAD 法により決定した。また、最終的に PF-AR NW12A を用いて 1.42Å の高分解能の Native 結晶の回折データを収集することに成功した。Emp47p CRD は、7-227 および 244-249 残基をモデルトレースすることができた。興味深いことに、Emp47p は Ca<sup>2+</sup> 依存性 ERGIC-53 のホモログとして考えられていたが、得られた構造中には Ca<sup>2+</sup> は存在していなかった。結晶化条件は、リン酸 Na および K を沈殿剤としたものであったことから、Ca<sup>2+</sup> を用いたソーキングおよび共結晶化を行うことが出来なかった。また、Ca<sup>2+</sup> 存在下で精製したサンプルを結晶化したが、同様に



**Figure 1**

Crystals of the Emp46p and Emp47p CRD. (a) The monoclinic crystals ( $P2_1$ ) of Emp46p CRD (1-251). (b) The tetragonal crystals ( $P4_32_1$ ) of Emp47p (1-254). (c) The monoclinic crystals ( $C2$ ) of Emp47p (7-227). (d) The monoclinic crystals ( $P2_1$ ) of Emp47p (7-227). (e) The orthorhombic crystals ( $P2_12_12_1$ ) of Emp47p (7-227). (f) The  $K^+$ -bound monoclinic crystals ( $P2_1$ ) of Emp46p CRD (6-229). (g) The metal-free monoclinic crystals ( $P2_1$ ) of Emp46p CRD (6-229). (h) The Y131F monoclinic crystals ( $P2_1$ ) of Emp46p CRD (6-229). A black bar indicates 0.1 mm.

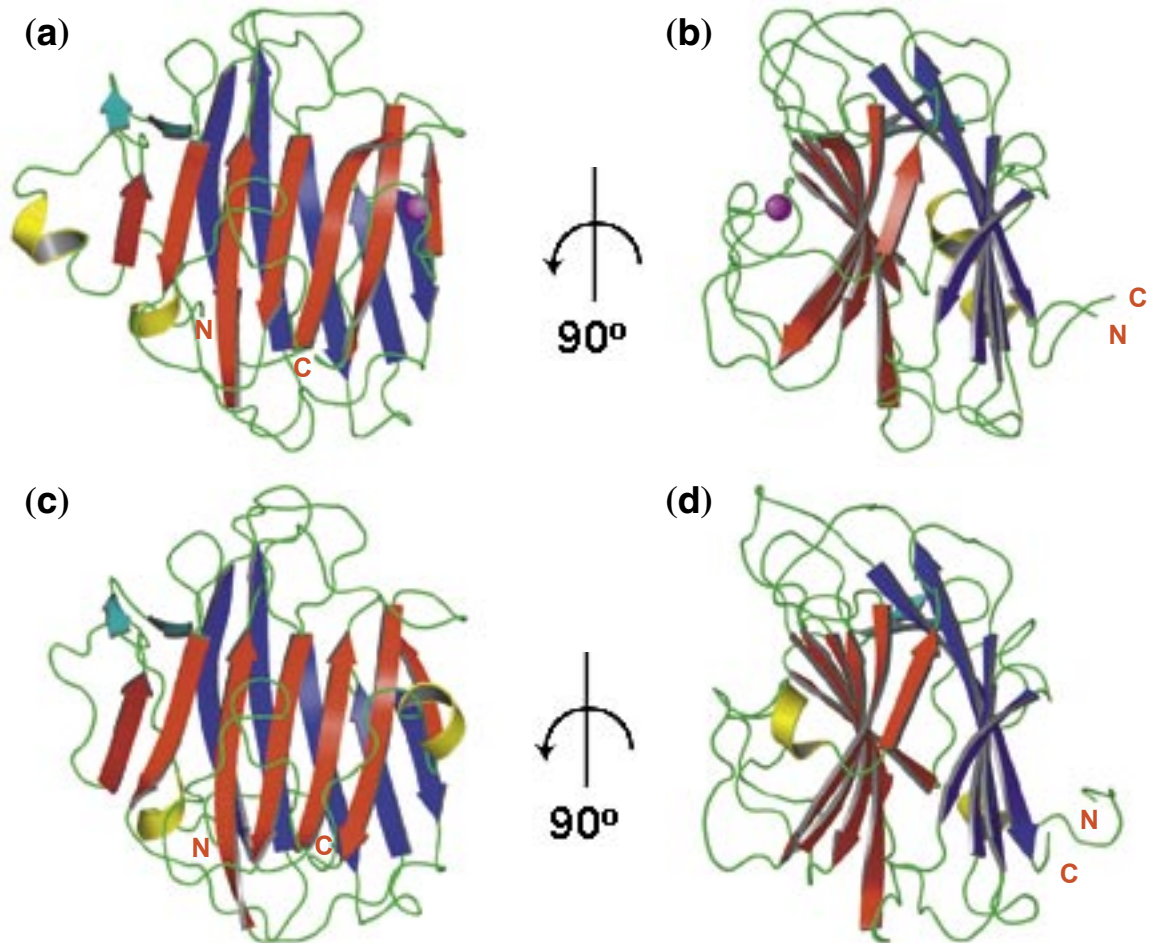
$Ca^{2+}$  は構造中に確認されなかった。そこで、新しい結晶化条件を検索するために、Emp47p の C 末端領域を除くモデルトレース出来た領域に対応する 7-227 残基から成る新しいコンストラクトを作成し、精製・結晶化を行った。その結果、新たに PEG3350 および 4000 を沈殿剤とした 3 条件で結晶を得た (Fig. 1c-e)。得られた 2 つの結晶系は  $C2$  および  $P2_1$  で、PF-BL6A を用いてそれぞれ  $1.00\text{\AA}$  および  $1.05\text{\AA}$  の超高分解能の回折データを収集することに成功した。一方、 $P2_12_12_1$  の結晶系では、 $2.70\text{\AA}$  の分解能であった。Orthorhombic の結晶化条件では  $10\text{ mM}$  の  $Ca^{2+}$  が存在しており、Monoclinic form の条件ではそれぞれ  $10\text{ mM}$  の  $Ca^{2+}$  のソーキングを行った。しかしながら、得られた構造中には  $Ca^{2+}$  は存在していなかった。一連の結晶化実験の結果から、Emp47p は  $Ca^{2+}$  が結合しない新規の積み荷タンパク質レセプターであることが示唆された。

一方、Emp46p は Emp47p を初期モデルとした分子置換法では位相決定できなかつたため、SeMet 置換結晶の作成を試みた。しかしながら、Native の結晶化条件では SeMet 置換体結晶は得られず、精製収量も低かつたことから、結晶化条件のスクリーニングを行うのは困難であった。そこで、構造決定した Emp47p の C 末端領域を除くモデルトレース出来た領域に対応する Emp46p の 6-229 残基から成る新しいコンストラクトを作成し、精製・結晶化を行った。その結果、発現・精製における可溶化効率もあがり、再度結晶化条件の検索を行い、Native および SeMet 置換体結晶を再現性良く得ることができた (Fig. 1f)。最終的に PF-BL6A を用いて  $1.80\text{\AA}$  分解能で SeMet 置換体結晶を用いた MAD 法による位相決定を行い、PF-BL18B を用いて  $1.52\text{\AA}$  の高分解能の Native 結晶の回折データを収集することが出来た。驚くべくことに、Emp46p CRD では  $Ca^{2+}$  が結合せず、その代わりに  $K^+$  が結合していた。この

Emp46p に結合した金属イオンが  $Ca^{2+}$  ではなく  $K^+$  であると同定した経緯・根拠等については後で詳しく述べる。続いて、金属フリーおよび  $K^+$  が結合できない変異体 Y131F の結晶を作成し (Fig. 1g,h)、それぞれ PF-BL6A および PF-BL5A にて  $1.75\text{\AA}$  と  $1.55\text{\AA}$  分解能の回折データを得た。Table 1, 2 (Appendix) にデータ測定および精密化の統計値を示すが、Emp47p の Orthorhombic form を除いて、いずれも良質な回折データの収集に成功し、非常に精度の高い構造モデルを得ることに成功した。今回、最初に得られた結晶構造の中で、電子密度が見えない N および C 末端残基 (つまり温度因子が高く、二次構造の形成および結晶のパッキングに関与せず揺らいでいる部分) を削ったコンストラクトを再度作成することで、良質な結晶を得ることができた。構造を形成する最小限のコンストラクトを設計することが、分解能の向上に成功した一例であると言える。

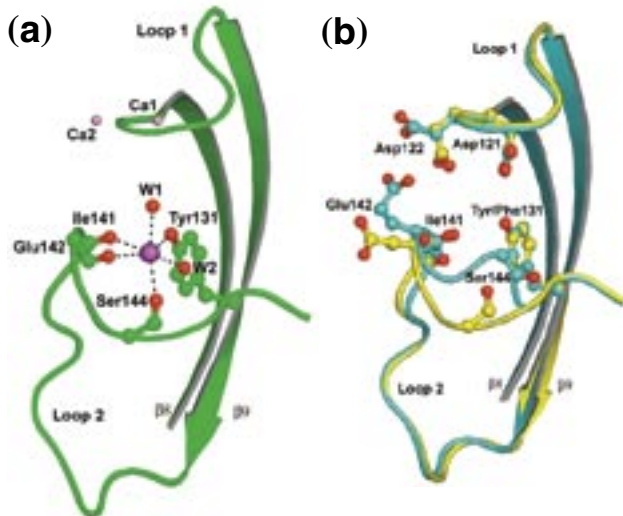
### 3. カリウムが結合する変わり者、Emp46p

Emp46p と Emp47p の CRD の全体構造は、凹型および凸型  $\beta$  シートからなる  $\beta$  サンドイッチ構造から構成されていた (Fig. 2)。ERGIC-53 の CRD と比較してみると、全体構造はよく似ていたが (Emp46p:  $1.24\text{\AA}$ , Emp47p:  $1.27\text{\AA}$ )、金属結合部位は異なっていた。これまでに、哺乳動物のホモログである ERGIC-53 および VIP36 は、 $Ca^{2+}$  依存性の積み荷タンパク質レセプターであることが知られている [10,11]。しかしながら、我々は結晶学的手法により、Emp47p が  $Ca^{2+}$  と結合せず、一方 Emp46p は  $Ca^{2+}$  と結合せず、その代わりに  $K^+$  と結合することを明らかにした [9]。Emp46p CRD の構造が得られた当初、金属イオンの場所は ERGIC-53 の二つの  $Ca^{2+}$  サイトと若干異なっていたが (Fig. 3a)、糖鎖結合サイト (凹型  $\beta$ -sheet 上) の近くに位置していたことから、その金属イオンは  $Ca^{2+}$  だと考えていた。



**Figure 2**

Overall structures of the CRD of Emp46p and Emp47p. Ribbon models of the CRD of Emp46p monomer are shown in (a) and (b) which is rotated by 90° around a vertical axis. Ribbon models of the CRD of Emp47p monomer are shown in (c) and (d) as in Emp46p. Positions of the N- and C-termini are indicated by red letters. The secondary structures are highlighted ( $\beta$ -strands belonging to the concave  $\beta$ -sheets, red;  $\beta$ -strands belonging to convex  $\beta$ -sheets, blue;  $\beta$ -strands belonging to  $\beta$ -hairpin, cyan; helices, yellow) and the loops are colored green. The bound potassium ion is shown as a magenta sphere.



**Figure 3**

K<sup>+</sup> ion binding site of Emp46p. (a) K<sup>+</sup> binding site of Emp46p. Residues coordinating K<sup>+</sup> are shown in ball-and-stick models. Magenta sphere indicates K<sup>+</sup>. Water molecules are shown as W1 and W2. Pink spheres indicate Ca<sup>2+</sup> ions at the sites Ca1 and Ca2 in p58/ERGIC-53 [8]. (b) Comparison between the metal-free and Y131F Emp46p structures. The metal-free and Y131F structures are colored in yellow and cyan, respectively.

ホモログである ERGIC-53 が Ca<sup>2+</sup> 依存性のレクチンであるので、当然 Emp46p も Ca<sup>2+</sup> と結合し、まさかレクチンに 1 価カチオンである K<sup>+</sup> が結合する訳は無いらろうという先入観があった。実際、原子番号 19 の K と 20 の Ca では、モデル上にそれら原子を当てはめた場合、*f<sub>o</sub>f<sub>c</sub>* 電子密度マップ上の違いおよび温度因子の違いは見られない。金属結合型の結晶は、20%PEG3350, 0.3 M KF, 10 mM CaCl<sub>2</sub>, 0.1 M HEPES-Na (pH 7.5), 10% ethylene glycol の条件で得られた (Fig. 1f)。しかしながら、10 mM CaCl<sub>2</sub> を除き EDTA および EGTA 存在下で金属非結合型の結晶化を行い構造解析したが、金属非結合型の構造を得ることができなかった。また、サンプルの原子吸光分析を行ったところ、サンプル中には有意な Ca<sup>2+</sup> は存在していないことが判った。これらの実験結果から、Emp46p は Ca<sup>2+</sup> ではなく、K<sup>+</sup> と結合することが示唆された。そこで、再度結晶化条件の検索を行い、22%PEG1000, 0.1 M HEPES-Na (pH 7.5), 10% ethylene glycol の条件で金属非結合型の結晶を得ることに成功した (Fig. 1g)。この結晶を用いて、CaCl<sub>2</sub> および KF のソーキング実験を行ったところ、K<sup>+</sup> のみが結合することが明らかになった。また、Emp46p の金属結合部位に

ついて詳細な検討を行ったところ、金属と配位残基との距離が2.6-2.9Åであり、Ca<sup>2+</sup>で見られる2.4Å前後[12]よりも大きく、K<sup>+</sup>で見られる2.8Å前後[13]に近いことが判った (Fig. 3a)。以上の結果から、Emp46pはK<sup>+</sup>が結合する新奇の積み荷タンパク質レセプターであることが明らかになった。これまでに報告されているレクチンの中で、カリウムが結合するものは知られていないので、Emp46pはかなりの変わり者と言える。

#### 4. 変異体を用いた温度感受性実験および結合実験

次に、Emp46pに結合したK<sup>+</sup>が糖鎖結合に関わるかどうかを調べるために、変異体Y131Fを作製し、X線結晶構造解析、表面プラズモン共鳴を利用したバイオセンサー (Biacore2000, Biacore社) を用いた結合実験、および酵母を用いた温度感受性実験を行った。まず、変異体Y131Fの構造解析を行い、K<sup>+</sup>が結合できないことを確認した (Fig. 3b)。今のところ、Emp46pおよびEmp47pの積み荷タンパク質は同定されていないことから、市販されている高マンノース型、混成型の様々な糖鎖を持つ糖タンパク質 (チログロブリン、オボアルブミン、トランスフェリンなど) を用いて、結合実験を行った。その結果、Emp47pはいずれの糖タンパク質とも結合しなかったが、Emp46pはMan<sub>7</sub>GlcNAc<sub>2</sub>を持つ高マンノース型のチログロブリンと結合することが明らかにされた (data not shown)。小胞体で新生されゴルジ体へ輸送される成熟型のN型糖タンパク質はMan<sub>8</sub>GlcNAc<sub>2</sub>という糖鎖を持つので、結合実験の結果はEmp46pの積み荷タンパク質レセプターとしての機能を支持した。また、WTとY131Fを用いたCa<sup>2+</sup>および

K<sup>+</sup>存在下での結合実験を行ったところ、Ca<sup>2+</sup>およびK<sup>+</sup>はEmp46pとチログロブリンとの結合に影響を及ぼさないことが判った (data not shown)。一方、酵母を用いた温度感受性実験では、Y131FがWTと比較して温度感受性が低下し、生体内でK<sup>+</sup>がEmp46pの機能 (糖タンパク質の輸送) に関与していることが示唆された (Fig. 4)。

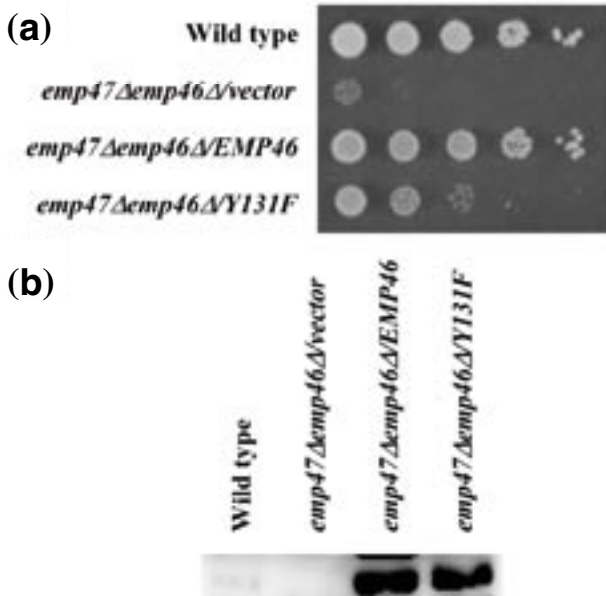
本研究において、我々はEmp46pとEmp47pが新奇のCa<sup>2+</sup>非依存性の新規の積み荷タンパク質レセプターであることを明らかにした。今後、糖鎖認識のために必要だと考えられるヘテロオリゴマー化したEmp46/47pおよび積み荷タンパク質の糖鎖との複合体構造の解析により、Ca<sup>2+</sup>非依存性 (もしかしたらK<sup>+</sup>依存性) の新しい糖鎖認識機構が明らかにされることが期待される。

#### 謝辞

本研究を始めた当初、タンパク質結晶構造解析については素人同然であった私を指導して頂いた構造生物学研究センターの博士研究員であった (現) 東京大学大学院・総合研究科・助手の志波智生博士にこの場を借りて御礼を申し上げます。また、原子吸光分析を行うにあたって、本機構放射線科学センター、別所光太郎助手に御礼を申し上げます。本研究の一部はタンパク3000プロジェクトの研究助成により進められた。

#### 引用文献

- [1] M. J. Kuehn, J. M. Herrmann, and R. Schekman, *Nature* **391**, 187 (1998).
- [2] W. J. Belden, and C. Barlowe, *Science* **294**, 1528 (2001).
- [3] K. Fiedler, and K. Simons, *Cell* **77**, 625 (1994).
- [4] K. Sato, and A. Nakano, *Mol. Biol. Cell* **13**, 2518 (2002).
- [5] K. Sato, and A. Nakano, *Mol. Biol. Cell* **14**, 3055 (2003).
- [6] W. C. Nichols, U. Seligsohn, A. Zivelin, V. H. Terry, C. E. Hertel, M. A. Wheatley, M. J. Moussalli, H. P. Hauri, N. Ciavarella, R. J. Kaufman, and D. Ginsburg, *Cell* **93**, 61 (1998).
- [7] L. M. Velloso, K. Svensson, G. Schneider, R. F. Pettersson, and Y. Lindqvist, *J. Biol. Chem.* **277**, 15979 (2002).
- [8] L. M. Velloso, K. Svensson, R. F. Pettersson, and Y. Lindqvist, *J. Mol. Biol.* **334**, 845 (2003).
- [9] T. Satoh, K. Sato, A. Kanoh, K. Yamashita, Y. Yamada, N. Igarashi, R. Kato, A. Nakano, and S. Wakatsuki, *J. Biol. Chem.* **281**, 10410 (2006).
- [10] C. Appenzeller, H. Andersson, F. Kappeler, and H. P. Hauri, *Nat. Cell. Biol.* **1**, 330 (1999).
- [11] K. Fiedler, and K. Simons, *J. Cell Sci.* **109**, 271 (1995).
- [12] M. M. Harding, *Acta Cryst. D* **57**, 401 (2001).
- [13] M. M. Harding, *Acta Cryst. D* **58**, 872 (2002).



**Figure 4**  
Phenotype of Y131F-Emp46p. (a) Isogenic wild-type (YPH500) and emp47Δ emp46Δ (KSY008) cells transformed with a multicopy plasmid, a multicopy plasmid with EMP46, or a multicopy plasmid with EMP46-Y131F were grown at 37°C. (b) The amount of the expressed protein in each cell was estimated by Western blotting. The expression amount of Y131F mutant is almost identical to that of the wild type.

(原稿受付: 2006年7月5日)

## 著者紹介

佐藤匡史 Tadashi SATOH



高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・博士研究員（産学連携）  
〒305-0801 茨城県つくば市大穂1-1  
TEL: 029-879-6176  
FAX: 029-879-6179  
e-mail: tadashi.satoh@kek.jp

略歴：平成10年日本大学農獣医学部卒業，平成12年日本大学大学院農学研究科修士過程修了，平成15年日本大学大学院生物資源科学研究科博士後期課程修了，平成15年4月より現職。博士（生物資源科学）。最近の研究：糖鎖修飾と細胞内タンパク質輸送の構造生物学に関する研究。  
趣味：サッカー（トップ・オフエンシブハーフ，平成17年度高エネ研サッカー一部主将）

佐藤 健 (Ken SATO)

理化学研究所・中野生体膜研究室・研究員  
科学技術振興事業機構さきがけ研究員，理学博士。

山下克子 (Katsuko YAMASHITA)

東京工業大学・イノベーション研究推進体・教授，科学技術振興事業機構CREST研究員，理学博士。

山田悠介 (Yusuke YAMADA)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・助手，理学博士。

五十嵐教之 (Noriyuki IGARASHI)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・助手，理学博士。

加藤龍一 (Ryuichi KATO)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・助教授，理学博士。

中野明彦 (Akihiko NAKANO)

理化学研究所・中野生体膜研究室・主任研究員，  
東京大学大学院・理学系研究科・教授，理学博士。

若槻壮市 (Soichi WAKATSUKI)

高エネ研・物構研・構造生物学研究センター・教授，  
Ph.D.

〒305-0801 茨城県つくば市大穂1-1

TEL: 029-879-6178

FAX: 029-879-6179

e-mail: soichi.wakatsuki@kek.jp

## 訂正とお詫び

前号 Vol.24 No.1 MAY 2006, p29

「最近の研究からー蛋白質の選別輸送に関わる Hrs-UIM の二つのユビキチン結合部位」で，Fig.5 に修正前の図を掲載してしまいました（修正後は，各行のアルファベットが全て縦方向に等しくなっています）。ここに訂正し，著者並びに関係者の方々にお詫び申し上げます。

Figure 5

Repeating sequence of Hrs-UIM. Middle line shows the sequence of Hrs-UIM; top and bottom lines show motifs binding ubiquitin molecule A (green) and molecule B (sky blue). Shaded letters indicate important residues for each binding site in particular. Italic letters indicate residues not observed in the electron density map. The two motifs are shifted by two residues relative to each other.

## (Appendix)

**Table 1. Data collection and refinement statistics of Emp46p CRD**

<b>Crystallographic data</b>			
Data set	K <sup>+</sup> -bound Emp46p	metal-free Emp46p	Y131F-Emp46p
Space group	<i>P</i> <sub>2</sub> <sub>1</sub>	<i>P</i> <sub>2</sub> <sub>1</sub>	<i>P</i> <sub>2</sub> <sub>1</sub>
Unit cell			
<i>a</i> / <i>b</i> / <i>c</i> (Å)	54.3 / 55.9 / 77.5	54.9 / 55.8 / 77.7	54.2 / 56.0 / 77.7
$\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ (°)	90.0 / 108.3 / 90.0	90.0 / 108.0 / 90.0	90.0 / 108.6 / 90.0
<b>Data processing statistics</b>			
Beam line	PF-BL18B	PF-BL6A	PF-BL5A
Wavelength (Å)	1.0000	1.0000	1.0000
Resolution (Å)	50 - 1.52 (1.57-1.52)	50 - 1.75 (1.81-1.75)	50 - 1.55 (1.61-1.55)
Total reflections	251 587	170 170	224 664
Unique reflections	68 062	45 402	64 255
Completeness (%)	99.6 (99.9)	99.8 (100.0)	98.1 (97.3)
<i>R</i> <sub>merge</sub> (%)	3.9 (36.7)	4.5 (35.5)	5.3 (38.1)
<i>I</i> / $\sigma$ (I)	13.3 (3.6)	17.0 (4.0)	15.6 (2.8)
<b>Refinement statistics</b>			
Resolution (Å)	20 - 1.52	20 - 1.75	20 - 1.55
<i>R</i> <sub>work</sub>	18.9	21.0	20.2
<i>R</i> <sub>free</sub>	21.8	23.7	23.5
R.m.s.d. from ideal values			
Bond length (Å)	0.011	0.013	0.013
Bond angle (°)	1.40	1.41	1.40
Ramachandran plot (%)			
Most favored	83.4	83.3	85.6
Additionally allowed	15.6	15.9	13.9
Generously allowed	1.1	0.8	0.5
Number of atoms			
Protein atoms	3485	3488	3495
Water molecules	424	300	423
Potassium ions	2	-	1
Average <i>B</i> <sub>iso</sub> (Å <sup>2</sup> )			
Protein (A / B chain)	19.2 / 21.4	30.0 / 32.2	26.7 / 26.8
Water molecules	30.3	37.9	37.4
Potassium ions	21.7	-	32.5

**Table 2. Data collection and refinement statistics of Emp47p CRD**

<b>Crystallographic data</b>				
Data set	Form 1 Emp47p	Form 2 Emp47p	Form 3 Emp47p	Form 4 Emp47p
Space group	<i>P</i> <sub>4</sub> <sub>3</sub> <sub>2</sub> <sub>1</sub> <sub>2</sub>	<i>C</i> <sub>2</sub>	<i>P</i> <sub>2</sub> <sub>1</sub>	<i>P</i> <sub>2</sub> <sub>1</sub> <sub>2</sub> <sub>1</sub>
Unit cell				
<i>a</i> / <i>b</i> / <i>c</i> (Å)	70.31 / 70.31 / 100.14	72.5 / 65.0 / 41.5	41.6 / 65.2 / 72.5	39.5 / 129.7 / 170.1
$\alpha$ / $\beta$ / $\gamma$ (°)	90.0 / 90.0 / 90.0	90.0 / 96.7 / 90.0	90.0 / 96.7 / 90.0	90.0 / 90.0 / 90.0
<b>Data processing statistics</b>				
Beam line	PF-AR NW12	PF-BL6A	PF-BL6A	PF-BL6A
Wavelength (Å)	1.0000	0.9779	0.9779	0.9779
Resolution (Å)	50 - 1.42 (1.47-1.42)	50 - 1.00 (1.04-1.00)	50 - 1.05 (1.09-1.05)	50 - 2.70 (2.80-2.70)
Total reflections	652 089	360 696	626 427	171 279
Unique reflections	48 179	103 133	178 928	24 787
Completeness (%)	99.6 (99.9)	96.3 (88.7)	98.5 (85.6)	99.8 (99.5)
<i>R</i> <sub>merge</sub> (%)	5.8 (38.4)	4.6 (24.9)	6.5 (38.0)	11.3 (48.6)
<i>I</i> / $\sigma$ (I)	14.0 (6.0)	17.8 (4.9)	8.9 (2.3)	8.7 (4.8)
<b>Refinement statistics</b>				
Resolution (Å)	10 - 1.42	10 - 1.00	10 - 1.10	20 - 2.70
<i>R</i> <sub>work</sub>	13.4	13.0	13.5	19.8
<i>R</i> <sub>free</sub>	19.2	16.3	17.3	25.8
R.m.s.d. from ideal values				
Bond length (Å)	0.012	0.016	0.014	0.013
Angle distance (Å)	0.030	0.032	0.031	1.33
Bond angle (°)				
Ramachandran plot (%)				
Most favored	84.9	85.9	85.4	77.6
Additionally allowed	13.6	13.5	13.8	21.2
Generously allowed	1.5	0.5	0.8	1.2
Number of molecules and atoms				
Protein atoms	1844	1773	3554	6881
Water molecules	301	320	643	204
Average <i>B</i> <sub>iso</sub> (Å <sup>2</sup> )				
Protein (A / B / C / D chain)	20.7	11.4	10.4 / 9.2	29.0 / 34.7 / 44.3 / 30.1
Water molecules	36.1	23.3	22.3	22.7