



Title	The Structural and Functional Analyses of ADP-ribose Pyrophosphatase from <i>Thermus thermophilus</i> HB8
Author(s)	葭葉, 幸子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45109
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名 よし ば 幸 子

博士の専攻分野の名称 博 士 (理 学)

学 位 記 番 号 第 1 8 4 1 3 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 16 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

理学研究科生物科学専攻

学 位 論 文 名 The Structural and Functional Analyses of ADP-ribose
Pyrophosphatase from *Thermus thermophilus* HB8
(高度好熱菌 ADP-ribose pyrophosphatase の構造・機能解析)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 倉 光 成 紀

(副査)

教 授 金 澤 浩 教 授 福 山 恵 一 講 師 増 井 良 治

論 文 内 容 の 要 旨

ADP-ribose pyrophosphatase (ADPRase), one of the ubiquitous Nudix hydrolases, present in all three kingdoms, acts to prevent the intracellular accumulation of ADP-ribose by hydrolyzing ADP-ribose to AMP and ribose-5'-phosphate.

We determined crystal structures of *Thermus thermophilus* HB8 ADP-ribose pyrophosphatase (*Tt*ADPRase). This enzyme catalyzes the Mg or Zn ion dependent hydrolysis and forms a homodimer in solution. It was crystallized in the free, metal-bound, substrate complex, substrate and metal complex, and product complex forms. The determined overall structures of *Tt*ADPRase were very similar one another. While *Tt*ADPRase structure was similar to those of *E. coli* ADPRase (*Ec*ADPRase) and *M. tuberculosis* ADPRase (*Mt*ADPRase), the aspect of the active site in the ternary complex was different from those of two other species.

Based on structural and mutagenesis studies, we proposed a novel catalytic mechanism that Glu70 and Glu82 in the Nudix box act as catalytic bases. Especially carboxylates in Glu82 and Glu70 abstract hydrogen from a water. This activated water molecule is situated at an ideal position for carrying out the nucleophilic attack on the adenosyl phosphate, as it is 3.6 Å away from the α-phosphorus and is almost in line with scissile bond (angle 144°). The configuration formed by metal ions and two water molecules involved in catalysis is essential for the ADPR pyrophosphate hydrolysis.

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ADP リボースピロフォスファターゼ (ADPRase) は、細胞にとって有害な代謝物を分解する Nudix ヒドロラーゼの一つである。本酵素の酵素反応機構を解析するために、一般に酵素タンパク質の安定性が高く、タンパク質の構造

機能解析に適していることが知られている高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 の ADPRase 用いて、その反応中間体の立体構造解析を行うとともに、分子機能解析を行った。その結果、ADPRase の活性発現に重要なアミノ酸残基や金属イオンの役割を含めて、酵素反応機構を明らかにすることができた。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。