

## セレノシステインを導入したクピンタンパク質の調整と反応性の評価

(阪府大生命<sup>1</sup>・大阪公大院農<sup>2</sup>) ○木下結貴<sup>1</sup>・松本紘依<sup>2</sup>・松本沙耶香<sup>1</sup>・藤枝伸宇<sup>2</sup>  
Preparation of Selenocysteine-containing Cupin Protein and Its Chemical Reactivity  
(<sup>1</sup>Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University,  
<sup>2</sup>Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University) ○Yuki Kinoshita<sup>1</sup>, Hiroe  
Matsumoto<sup>2</sup>, Sayaka Matsumoto<sup>1</sup>, Nobutaka Fujieda<sup>2</sup>

Selenocysteine (SeCys) has been discovered as the 21st proteinogenic amino acid in catalytic proteins mainly in the active site of oxidoreductases such as glutathione peroxidase and thioredoxin reductase. Its selenol moiety is more acidic than the thiol group of cysteine and is quite reactive and susceptible to air-oxidation due to its lower redox potential. Whereas natural SeCys are incorporated in highly species-specific system by a complex translation machinery, the overproduction of several SeCys-containing proteins has been described in the *E. coli* BL21(DE3) *cysE*. On the other hand, we have attempted to create artificial metalloenzymes with cupin superfamily protein from *Thermotoga maritima*. In this study, we tried to introduce selenocysteine into this cupin protein to expand the catalytic function. Here, we will report its characterization and chemical reactivity.

**Keywords:** Selenocysteine; Cupin superfamily protein; Artificial Metalloenzyme

セレノシステインは、21番目に発見されたアミノ酸であり、グルタチオンペルオキシダーゼやチオレドキシシン還元酵素など、酸化還元酵素の活性部位に存在している。セレノシステインの側鎖であるセレノール基は、システインのチオール基に比べて、酸解離しやすく酸化還元電位が低いため、水中でも反応性が高く酵素活性中心の触媒残基として機能している。天然のセレノシステインは複雑な機構でタンパク質に導入されるが、大腸菌のシステイン要求株である BL21(DE3) *cysE* を用いるとシステイン非存在下では、システインの代わりにセレノシステインが導入されたタンパク質が合成されることが知られている。<sup>1)</sup>

一方、当研究室では超好熱菌由来のクピンタンパク質を土台として用い、様々な人工金属酵素を開発してきた。<sup>2)</sup> このタンパク質は金属結合部位として4つのヒスチジン残基を持っている。このヒスチジン残基に直接遷移金属イオンを配位させることで、より簡便な人工金属酵素の構築法を開発してきた。その過程で、活性中心近傍に存在する106番目のシステイン残基 Cys106 がタンパク質中で酸化されてシステインスルフィン酸になっていることが分かり、基質との相互作用に寄与していることを明らかにしてきた。そこで、本研究ではこの位置にセレノシステインを導入したクピンタンパク質を調製し、その生化学的特性評価および化学反応性を検討したので報告する。

1) (a) Sabine Müller *et al.*, *Biochem.*, **1994**, 33, 3404. (b) Marie-Paule Strub *et al.*, *Structure*, **2003**, 11, 1359. 2) (a) N. Fujieda, S. Itoh, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 5149. (b) N. Fujieda, S. Itoh, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2020**, 59, 7717. (c) Matsumoto, R.; Fujieda, N. *et al.*, *ChemRxiv*, **2022**, 10.26434/chemrxiv-2022-5sh4j.