

翻訳後酸化によるチオエーテル架橋システイニルチロシンの形成

(大阪公大院農¹・阪府大院生命²) ○松本紘依¹・松本沙耶香²・藤枝伸宇¹

Formation of thioether-bridged cysteinyltyrosine by post-translational oxidation (¹*Graduate School of Agriculture, Osaka Metropolitan University*, ²*Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University*) ○ Hiroe Matsumoto¹, Sayaka Matsumoto², Nobutaka Fujieda¹

Recently, the development of analytical techniques has led to the discovery of novel built-in coenzymes formed by post-translational chemical modification of amino acid residues in proteins, such as cysteinyl tyrosine in galactose oxidase (GAO). In our laboratory, we have studied the TM1459 protein from *Thermotoga maritima*, which has low molecular weight and a metal binding motif with four histidines. In this study, we prepared a copper-containing metalloprotein that mimics the environment of the active center of GAO by using TM1459 protein, and formed a Tyr-Cys cross-linked structure using this protein. In this study, by using saturated mutagenesis to two amino acid residues in the proximity of Tyr108, the crosslink formation in the H58C/C106A/I108Y mutant was further improved. We will discuss about the detailed crosslink formation.

Keywords: Cross-link formation, Post-translational modification, Galactose oxidase

近年、分析技術の発達により、タンパク質中でアミノ酸が翻訳後化学修飾を受けて形成された新規な補因子が発見されてきた。そのうちガラクトースオキシダーゼ (GAO)は、活性中心部位にヒスチジンとチロシンを2つずつ持つ酵素であり、翻訳後化学修飾を受けて形成されたチロシンとシステインとの架橋構造は触媒作用を示すことが分かっている。当研究室では超好熱菌由来の TM1459 タンパク質を用いた研究を行なってきた。このタンパク質は分子量が小さく、金属中心に4つのヒスチジンが配位した構造をとる。そこで本研究では、TM1459 タンパク質の金属中心近傍にチロシンとシステインを導入することにより GAO の酵素活性中心を模倣した銅含有金属タンパク質を調製し、これを用いて自発的な Cys-Tyr 架橋構造の形成を行なった。

当研究室の先行研究によりわずかに架橋が形成されることが明らかになっている H58C/C106A/I108Y 変異体に対して X 線結晶構造解析を行い、Tyr108 の一つのロータマーとの相互作用が示唆された Val37 と Arg39 に対して飽和変異導入を行うことにより架橋形成が促進された変異体をスクリーニングした。本発表では得られた変異体における架橋形成についての詳細を報告する。

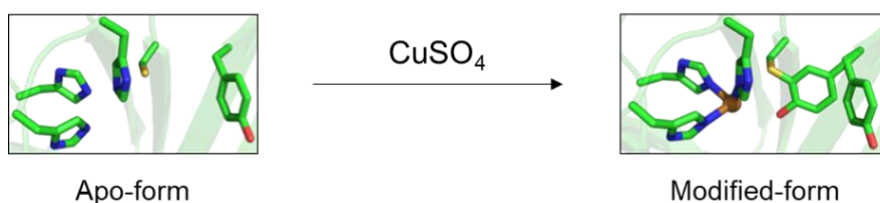


Fig 1. Copper-catalyzed Cys-Tyr formation