

クピンタンパク質の銅中心が誘起するシステインとチロシンの架橋形成

(阪府大院生命) ○松本 紘依・松本 沙耶香・藤枝 伸宇

Formation of cross-linkage between cysteine and tyrosine by mononuclear copper center of cupin superfamily protein (*Graduate School of Life and Environmental Sciences, Osaka Prefecture University*) ○Hiroe Matsumoto, Sayaka Matsumoto, Nobutaka Fujieda

Lately, 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. The crosslink formation proceeded in the H58C/C106A/I108Y mutant, in which tyrosine and cysteine are introduced near the metal center and further mutation improved its formation efficiency.

Keywords : Post-translational modification; Self-hydroxylation

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 タンパク質を土台とした GAO の酵素活性中心の環境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 Tyr-Cys 架橋構造の形成を行なった。

金属中心付近にチロシンとシステインを導入した様々な変異体のうち、H58C/C106A/I108Y 変異体において架橋形成が進行することが分かった。この変異体の構造解析から、Y108 の一つのロータマーと周辺アミノ酸 (Val37 と Arg39) が相互作用していることが示された。そこでこれらのアミノ酸にランダム変異を導入したところ、架橋形成が促進された変異体を確認することに成功した。本発表では変異を加えたタンパク質における架橋形成について詳細を報告する。

