

## タンパク質表面上でのシステイン残基の化学修飾効率に対する隣接酸性アミノ酸残基の影響

(奈良先端大・物質創成) ○中村 伊武輝・廣田 俊・松尾 貴史

Correlation between the efficiency of chemical modification at cysteine residues on protein surface and the existence of nearby acidic amino acid residues

(Division of Materials Science, Nara Institute of Science and Technology) ○Ibuki Nakamura, Shun Hirota, Takashi Matsuo

We previously found that two cysteine residues on the surface of the adenylate kinase triple mutant (A55C/C77S/V169C) have the different reactivities. The reactivity difference was attributed to the existence of nearby acidic amino acid residues and to the effects of local structural flexibility<sup>1)</sup>. Accordingly, we conducted the mutation of Glu170 to Asp or Ala to investigate the effect of Glu170 on the reactivity of Cys169. We had the adenylate kinase quadruple mutant (A55C/C77S/V169C/E170A) reacted with a limited amount (0.5 eq.) of pyrene molecules that contains an iodoacetamide group to determine the chemical modification efficiency for Cys169. The modification efficiency was found to be similar to the previous result obtained in adenylate kinase triple mutant (A55C/C77S/V169C). The finding indicates that the structural flexibility around the cysteine residue contributes more to the difference in reactivity of Cys than the effect of the adjacent acidic amino acid.

**Keywords :** Adenylate kinase, Chemical modification of proteins, Reactivity of cysteine residues, Acidic amino acid residue

システインのチオール基は中性条件でも求核性が高いことから、蛍光プローブ分子などのコンジュゲーションサイトに用いられているが、生体分子表面での選択的修飾は一般には困難とされている。我々はこれまでに、アデニル酸キナーゼ三変異体 (A55C/C77S/V169C; Adk<sub>tm</sub>) の表面にあるシステイン残基 (Cys55, Cys169) の化学修飾効率に差があることを明らかにし、隣接する酸性残基の影響および修飾位置周辺の局所的構造柔軟性が要因であることを指摘した<sup>1)</sup>。特に、Cys55の反応性は構造柔軟性効果が大きいことが分かったが、Cys169の反応性については不明である。そこで、Cys169に隣接するGlu170をAspおよびAlaに変異させ、隣接酸性アミノ酸残基の影響を検討した。Glu170をAlaに置換した変異体 (A55C/C77S/V169C/E170A) に限られた量 (0.5 eq.) のヨードアセトアミド基を有するピレン分子 (Fig. 1b) を化学修飾し、2つのシステイン残基に対する化学修飾選択率を求めたところ、Adk<sub>tm</sub>にピレン分子を化学修飾した場合と同様の結果が得られた。この結果から、隣接酸性アミノ酸の影響よりもシステイン残基周辺の構造柔軟性がCysの反応性の差に大きく寄与していることが明らかになった。

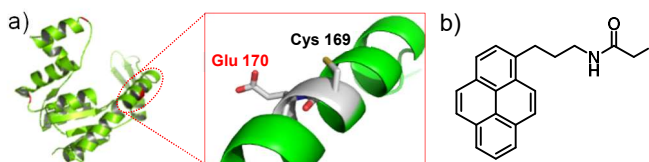


Fig. 1. (a) Adk<sub>tm</sub> 表面上にある Cys169 の周辺構造, (b) 化学修飾したピレン分子.

1) T. Miyake, S. Hirota, T. Matsuo, *Bioconjugate Chem.* **2020**, *31*, 794.