

提出日：平成 30 年 5 月 18 日

平成 28 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	新規な銅タンパク質の構造研究		
研究代表者	氏名	藤枝伸宇	
	所属機関名・部局名	大阪府立大学大学院生命環境科学研究科応用生命科学専攻	
	職名	准教授	
事業名 (該当の事業名の右欄に○)	<input type="radio"/>	共同研究員	
	<input type="radio"/>	国際共同研究課題	
	<input type="radio"/>	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
	<input type="radio"/>	客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	栗栖 源嗣		
<p>チロシナーゼはフェノールの水酸化と続くドーパの酸化反応を触媒しメラニンの生合成に寄与する酵素である。活性中心にはそれぞれ3つのヒスチジンが配位した二核の銅イオンをもつ。これまでメラニン合成を阻害する美白化粧品の開発などを目的として、チロシナーゼの反応機構を解明するための研究が行われてきた。モデル錯体を用いた研究により詳細な反応機構が明らかになってきたものの、基質認識に関わる相互作用については明らかになっていない。当研究室ではこれまでに活性制御ドメインをもつ不活性型チロシナーゼの結晶構造を明らかにしてきた。さらに、昨年度、活性制御ドメインを加水分解除去した活性型チロシナーゼを調製し結晶化を行い、1.5 Åの分解能で構造決定に成功した。その結果、活性中心では二核の銅イオンの一方が2つの位置 (CuA1, CuA2) に見られた。チロシナーゼのフェノール水酸化反応機構に関して、これまでチロシンが銅イオンに接近し、配位することで反応が進行すると考えられていた。しかしながら、複合体結晶構造から、第1段階としてアミノ酸残基によって形成されている基質結合部位にチロシンが結合することが示唆された。そこで、本研究では CuA2 をミミックした変異体を用い、酸素が結合した酸素化体の結晶構造を決定することで、基質との相互作用さらには酸素との相互作用から反応機構に対する更なる知見を得ることを試みた。この変異体の結晶構造を観測した結果、結合した酸素が X 線損傷により、消失していたため、最終的に 16 個の結晶データをマージし解析を行った。その結果、酸素に由来する電子密度が観測された。また、CuA は CuA1 が消失し、CuA2 のみになることが確認できた。詳細に酸素結合の向きを検討した結果、CuA1 の場合は基質から遠位に結合するが、CuA2 の場合は結合の向きが回転することによって酸素が基質に接近することが示された。以上の様に、本研究では、活性中心の銅イオンの一つが、基質の結合に伴い、大きく結合部位や配位構造を変化させることに伴って、酸素の向きが変化するという興味深い現象を捉えることに成功した。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ず A4 用紙 1 枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成 30 年 5 月 18 日 (金) ※提出の際は PDF 変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp