

2023 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

共同研究員

(2) 研究代表者

氏名：藤枝 伸宇

所属機関名・部局名・職名：大阪公立大学・大学院農学研究科・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

新規な銅タンパク質の構造研究

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：栗栖 源嗣 (研究室名：蛋白質結晶学)

(5) 研究成果の概要 (公開)

***背景および目的、方法と結果、について、公開して差し支えない範囲で 1 ページ以内で記載。**

チロシナーゼはメラニン生成の初発反応に関与する鍵酵素であり、フェノールの酸化とドーパの酸化反応を司る。チロシナーゼがもつ二核銅中心の銅イオンはそれぞれ 3 つのヒスチジンによって保持されている。美白を促進にはチロシナーゼ阻害剤がメラニン合成を効率的に阻害することから、その化粧品への展開が重要である。そのため、チロシナーゼ反応の分子機構を解明するための研究が行われてきた。モデル錯体研究で、フェノール水酸化の律速段階は基質が銅と配位結合を形成した直後の芳香族求電子置換反応の段階と考えられてきた。我々は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、L-チロシン、L-ドーパとの複合体、酸素との複合体の結晶構造を拠点事業の一環として決定した。チロシナーゼのフェノール水酸化反応機構では、基質の結合により、片側の銅イオンが分子内で遷移していることを明らかにした。さらに、銅イオンの間に存在する酸素原子 (化学状態としては過酸化水素) がチロシンの炭素原子側へと大きく偏ることで、反応性が增強されている可能性を見出した。昨年度まで、L-フルオロチロシンとの複合体結晶構造解析に取り組んできたが、L-チロシンに比べ分子サイズの大きい、L-フルオロチロシンは基質結合部位に結合できないことが分かっていた。そこで、基質結合部位近傍のアミノ酸残基を分子サイズの小さいアミノ酸に変異させた変異体との複合体結晶構造解析に取り組んできた。昨年度では、様々な条件検討を行ったが、最終的に明確に L-フルオロチロシンに由来すると断定できる電子密度が得られなかった。本年度では L-フルオロチロシンの類縁体との複合体の結晶構造解析に取り組んだ。まず、クライオ溶液の L-フルオロチロシン類縁体の濃度を 5, 10, 20 mM と増加させ、同様の実験を行ったところ、電子密度を得ることができた。現在、解析中である。