

(様式 1-1)

提出日：2025 年 5 月 9 日

2024 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、ほかは削除してください。）

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ください。）

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

*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記載。

チロシナーゼは、メラニン生合成の開始段階に関与する代表的な酸化酵素であり、フェノール類の水酸化および L-ドーパの酸化を触媒する。酵素が有する二核銅中心は、それぞれ 3 つのヒスチジン残基によって基質結合部位に固定されており、これらの銅イオンは反強磁性的な相互作用を示すことが知られている。チロシナーゼの活性を阻害することでメラニン生成を抑制できるため、同酵素は美白を目的としたスキンケア製品の分野において重要な標的とされている。こうした応用的背景を踏まえて、チロシナーゼの酵素反応機構を分子レベルで解明することが、近年の重要な研究課題となっている。モデル錯体を用いた既存の研究からは、フェノール水酸化反応の律速段階として、基質が銅イオンと配位した直後に起こる芳香族求電子置換反応が想定されている。我々はこの反応過程の理解を深めるため、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はじめ、L-チロシン、L-ドーパ、分子状酸素との複合体の結晶構造解析を、共同研究員・拠点事業の一環として遂行してきた。これらの構造情報をもとに、フェノール水酸化反応における基質認識と酸素活性化機構を詳細に検討した結果、基質の結合に伴い片側の銅イオンが分子内で遷移し、さらに、銅イオン間に架橋する酸素が、基質の芳香環に対して顕著に接近することで反応性が高まる可能性を明らかにした。

この反応や銅の分子内遷移を明らかにするため、昨年度、昨昨年度まで、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。今年度では全く別の銅クピン酵素でこのような活性中心の銅イオンが遷移することを見出した。こういった金属イオンの可塑性を厳密に決定するには原子分解能のデータが必要となる。そのため、現在、このタンパク質の反応機構がどのように起こっているかを調査するため、更に高分解能の結晶構造解析に着手している。