

FeS 依存型 L-システインリアーゼの構造機能相関の理解に向けて Toward unveiling a structure-function relationship of Fe-S-dependent cysteine lyase

藤城貴史¹

¹ 埼玉大学大学院理工学研究科分子生物学領域
〒338-8507 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

Takashi Fujishiro^{1,*}

Department of Biochemistry and Molecular Biology,
Graduate School of Science and Engineering,
Saitama University

255 Shimo-okubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan

1 はじめに

L-システインは、反応性に富むチオール基を持つ L- α -アミノ酸であり、タンパク質の構成成分として触媒残基や金属配位子として重要な役割を持ち、近年では硫黄代謝系において無機硫黄と有機硫黄の相互変換に重要な代謝中間物質としても知られる。L-システインを含む無機・有機硫黄代謝に関わる酵素としてよく知られるのが、ピリドキサル-5'-リン酸(PLP)を補因子とする PLP 酵素であり、代表的なものとして L-システインから無機硫黄を取り出すシステイン脱硫酵素、硫黄含有アミノ酸シスタチオンから L-システインを合成するシスタチオン- γ -リアーゼなどが知られる。これらの PLP 依存型酵素は、その構造-機能相関の研究が進み、活性部位の PLP に対して、基質アミノ酸のアミノ基が共有結合を形成することで触媒反応が開始される保存されたメカニズムを示す。

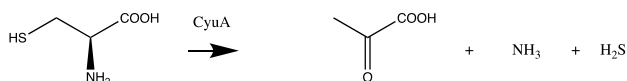


図 1. CyuA が触媒するシステインリアーゼ反応。

一方で、PLP を利用しない酵素の関わる硫黄代謝系の研究も近年進められている。代表的な例は、FeS クラスタを補因子とするシステインリアーゼ CyuA であり[1]、システインの C-S 結合の開裂を初期反応として、硫化水素とアンモニア、ピルビン酸を触媒的に合成する(図 1)。CyuA と同じ反応をする PLP 酵素として、PLP 依存型 L-システインデスルフィダーゼ (Cds) が知られるが、Cds と異なり CyuA の FeS クラスタを利用した触媒機構は依然不明のままである。

そこで、本研究課題では、CyuA の X 線結晶構造解析により、CyuA の全体構造および活性部位周辺の構造を明らかとすることを旨とし、研究を進めた。

また、L-システインを CyuA 結晶にソーキングした反応中間体構造の同定や、L-システインの構造ホモログであり、基質として利用されない L-ホモシステインの共結晶構造解析も試みた。

2 実験

CyuA はメタン生成古細菌 *Methanocaldococcus jannaschii* 由来のものを、嫌氣的に大腸菌組換え酵素として発現、精製した[2]。濃縮した CyuA を、嫌氣的条件で結晶化スクリーニングキットで結晶化条件を探索し、いくつかの結晶化条件で得られた微結晶の X 線回折を Photon factory で確認した。比較的良好な回折が得られた結晶は、構造解析のためのデータセットを Fe の異常分散波長 ($\lambda = 1.7393 \text{ \AA}$) で収集し、Crunk2 を用いて Fe-SAD で初期位相を決定した。得られた初期電子密度に対し、Bucaneer で初期モデリングを行なった。

3 結果および考察

嫌氣条件で得られた CyuA 美結晶は FeS 由来の茶色を呈しており、Fe-S クラスタ結合型として CyuA は存在することがわかった。Fe-SAD の結果、タンパク質主鎖をトレースできる程度の電子密度が観測できる初期位相決定に成功し、Bucaneer で初期モデルを作成した。現在、Coot、Refmac5、Phenix refine を用いた構造モデリングと精密化を進めている。また、並行して基質結合型や基質アナログ結合型の構造解析も進めている。

謝辞

本研究では PF のスタッフの方々にご協力いただきました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

参考文献

- [1] Zhou, et al., *mBio*. **13**, e0296521 (2022).
[2] Tchong, et al., *Biochemistry* **44** 1659-1670 (2005).

*tfujishiro@mail.saitama-u.ac.jp