

蛋白構造解析ユーザーグループ

2ME 化 SOD1 の結晶構造解析

伊原健太郎¹、藤原範子²、富本裕介³、若槻壮市¹、谷口直之^{4,5}、鈴木敬一郎²

¹高エネルギー加速器研究機構 物質構造科学研究所 構造生物学研究センター

²兵庫医科大学 生化学講座

³東レリサーチセンター 生物科学研究部

⁴大阪大学 微生物病研究所 疾患糖鎖学 寄附研究部門

⁵理化学研究所 システム糖鎖生物学研究グループ 疾患糖鎖研究チーム

概要

スーパーオキシドディスムターゼ (SOD) は、銅、マンガン、鉄、ニッケルなど複数の酸化数を有する遷移金属の酸化・還元を利用し、細胞に有害なスーパーオキシドアニオン O_2^- を、比較的無害な酸素分子 O_2 と過酸化水素 H_2O_2 という 2 つの生成物に不均化する酵素である。哺乳類では、銅・亜鉛結合型 (SOD1)、マンガン結合型 (SOD2)、そして細胞外分泌型 (SOD3) の 3 種類の SOD があり、このうち SOD1 は家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS: Familial Amyotrophic Lateral Sclerosis) の原因遺伝子の 1 つとして注目されている。SOD1 には 1 つのジスルフィド結合が保存される他に、ヒトを含むごく一部の哺乳類にのみ、フリーのシステインが 2 つ存在する。これらのシステインをセリン、又はアラニンに変異させると *in vitro* での蛋白質の熱安定性が増すことが報告されており、なぜ進化の過程で不安定な要因であるシステインが獲得されたのか興味深い。SOD1 のフリーシステインと蛋白質の安定性の相関を見るため、我々は SOD1 の結晶構造解析を開始した。結晶化に用いたヒト SOD1 は、精製過程で Cys111 の側鎖に 2-メルカプトエタノール (2ME) が付加している。もう 1 つのフリーシステイン Cys6 は 2ME 化されていない。この 2ME 修飾により SOD1 の熱安定性は若干増し、Cys111 側鎖の抗酸化耐性も強められている。実際、2ME 化 SOD1 溶液は 4°C において約 10 年間分解も凝集もせず、結晶化能を有している。結晶化ロボットを使用した結晶化条件のスクリーニングにより 2ME 化 SOD1 の結晶が得られ、PF BL-17A において 1.8 Å 分解能の回折データを収集、結晶の非対称単位中に存在する 12 分子の 2ME 化 SOD1 のうち 8 分子において、Cys111 側鎖に対する 2ME の付加が電子密度で確認された。2ME 化 SOD1 は 2ME 化されていない SOD1 と同じくホモ二量体を形成しており、二量体の間隙において約 4 Å という近距離で 2 つの 2ME 化された Cys111 が向かい合っている。得られた 2ME 化 SOD1 の立体構造と生化学データに基づき、フリーシステイン含有蛋白質一般に応用可能である 2ME 化の影響を考える。