

SOD1 の結晶構造解析

Crystal structural analysis of SOD1

伊原健太郎¹、藤原範子²、鳥越秀峰³、小笹哲夫³、金田薫³、
佐々木澄美³、山口芳樹⁴、若槻壮市¹、谷口直之^{4,5}、鈴木敬一郎²

¹高エネ機構物構研構造生物、²兵庫医大生化、³東理大理応化、
⁴理研基幹研システム糖鎖生物、⁵阪大産研疾患糖鎖

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イオンの酸化・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、より無害な酸素分子 O_2 と過酸化水素 H_2O_2 に不均化する。哺乳類では、銅・亜鉛結合型(SOD1)、マンガン結合型(SOD2)、細胞外分泌型(SOD3)の3種類のSODがあり、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つと考えられている。SOD1には菌類から哺乳類まで1つのジスルフィド結合が保存されるが、フリーのシステイン残基は保存されていない。ヒトではフリーのシステイン残基が2つ存在(Cys6とCys111)するが、これらをセリン、又はアラニンに変えると*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、進化の過程で構造の不安定化の要因となるシステインが獲得された点は興味深い。また、2つあるシステインのうちCys111のみ反応性が高く、例えば2-メルカプトエタノール(2ME)とのジスルフィド結合形成やアルキル化、スルホン酸に至るまでの酸化がCys111側鎖チオール基になされる。我々が研究材料とした宇部興産製SOD1では、Cys111の側鎖が2ME化されており、Cys111に対するアルキル化や酸化に強い耐性を有する。その安定性は、4°Cで10年以上保存されたSOD1溶液に活性があり、結晶化もできる点に現れている。銅イオンが存在するため、微生物の繁殖による分解も防がれるのだろう。Cys111に対する2ME化の詳細を明らかにするため、2ME化SOD1の結晶を用い、PF BL5Aにおいて1.8 Å分解能の回折データを収集、構造決定を行なったところ、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の付加が明瞭に確認された。2ME化SOD1は野生型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2つの2MEが相互作用している。この相互作用によりSOD1二量体が安定化されると考え、2ME化SOD1と野生型SOD1の熱安定性を円偏光二色性を用いて比較したが、大きな違いは認められなかった。特に2ME化の行なわれるCys111は、生物種によって配列がかなり異なるループVIの中にある。なぜヒトではフリーシステインが二つも獲得されたのか、各種生物由来SOD1、及びSOD1様蛋白質の結晶構造と比較して考えたい。