

331 ヒトメタロチオネイン-2のシステイン残基の役割

(阪大院・工・応生、*広大・工・発酵) ○外山 光俊、村上秀彦*、洪 星慧、
山下 光雄、室岡 義勝

【目的】 ヒトメタロチオネイン-2(hMT-2)は、61個のアミノ酸残基のうち20個がCys残基からなる金属結合蛋白質である。本Cys残基はすべて金属との結合に関与し、Cd、Znの場合1分子のhMT-2中に7原子の金属が結合する。本研究では、hMT-2のCys残基をHis残基に置換したときの金属結合能を明らかにすることを目的とした。

【方法及び結果】 hMT-2中のCys残基をHis残基に置換し、*invitro*で変性、再構成を行った。本試料を用いて原子吸光法による金属結合数、pH変化による金属との結合の安定度、CDスペクトルによる構造の変化を測定した。この結果、変異蛋白質では、金属結合数に変化は無いが、金属との結合の安定度及び構造に変化が見られた。

Role of Cys residues in human metallothionein-2

MITSUTOSHI TOYAMA, HIDEHIKO MURAKAMI*, SUNG-HYE HONG, MITSUO YAMASHITA, and YOSHIKATSU MUROOKA

Department of Biotechnology, Graduate School of Engineering, Osaka University and *Department of Molecular Biotechnology, Graduate School of Advanced Sciences of Matter, Hiroshima University

【Key words】 metallothionein, metal binding, site-directed mutagenesis, cysteine

332 細胞壁溶解酵素N-acetylmuramoyl-L-alanine amidaseの活性ドメインの立体構造と機能

(¹名大・工、²名大・超強力X線、³信州大・繊維) ○山根 隆¹・小山泰広¹・日影達夫²・秋田昌岳¹・鈴木淳巨¹・伊勢文紀³・志田敏夫³・関口順一³

【目的】 N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase(以後 amidase)は細胞壁中のグリカン鎖の主成分のmuramic acidとペプチド間のアミド結合を切断する細胞壁溶解酵素の1つであるがその立体構造は解っていない。我々は、amidaseの立体構造と機能の詳細を解明するために、Bacillus 族由来 amidase(CwlV)の活性ドメイン(CwlV1)のX線構造解析を行った。

【結果】 今回解析に用いたCwlV1は、CwlVのC末端に存在し、アミノ酸残基数は179である。wild type および活性に関与するGlu142をGlnに変換したmutant(E142Q)の1.8Å分解能の構造解析を完了し、分子の立体構造を決定した。

【考察】 CwlV1は6本のβストランドを含むシートと5本のαヘリックスよりなる3層α/β/α構造である。活性発現に必要なZnイオンには、E26、H10、H80の側鎖と水3分子が配位している。MutantではQ142の側鎖はwild typeと配向が異なり、Znイオンに遠ざかる方向を向いているため、wild type にはないQ142とN82の間に水素結合が形成されている。
The structure and function of the catalytic domain of a cell wall hydrolase, N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase.

○Takashi Yamane, Yasuhiro Koyama, Tatsuo Hikage, Masatake Akita, Atsuo Suzuki (School of Engineering, Nagoya University), Fuminori Ise, Toshio Shida, Junichi Sekiguchi (Faculty of Textile Science and Technology, Shinshu University)

【Key words】 amidase, autolysin, catalytic domain, crystal structure, X-ray