

29-0076 W132-2

Fructosyl-amino acid oxidase from *Corynebacterium* sp. 2-4-1 の X 線結晶構造解析

○山口 葉子¹, 中津 亨¹, 清水 哲哉¹, 阪上 了一², 梶山 直樹², 加藤 博章¹
(¹京大院薬, ²キッコーマン)

[目的] Fructosyl-amino acid oxidase (FAOX)は FAD を補酵素とし、糖化アミノ酸の酸化的脱糖化を触媒する酵素である。糖尿病治療において血糖コントロールの重要な指標である HbA1c はヘモグロビンのβ鎖 N 末端のバリン残基が血中グルコースにより糖化したものである。HbA1c に由来する D-fructosyl-L-valine は FAOX の基質となることから、HbA1c の酵素による簡便な測定が可能となると考えられる。すなわち基質認識機構を改良し、HbA1c の認識が可能になれば、臨床の場での汎用性の向上が期待できる。そこで、その研究の基礎となる FAOX の基質認識機構の構造的基盤を明らかにするために、*Corynebacterium* 属由来 FAOX の X 線結晶構造解析を行った。

[方法および結果] X 線結晶構造解析実験には耐熱化変異により安定化された FAOX を使用した。結晶化はシッティングドロップ蒸気拡散法により行い、沈殿剤として 0.95M tri sodium citrate、緩衝液に 0.1M MOPS pH7.0、温度は 25°C の条件で FAOX の結晶が得られた。またシーディング法を併用することにより、X 線結晶構造解析に適したひし形の単結晶が得られた。位相を決定するために水銀誘導体結晶を作成し、その多波長異常分散データを大型放射光施設 SPring-8 のビームライン BL38B1 において 2.1Å 分解能まで収集した。プログラム SOLVE により初期位相を計算し、FAOX の分子モデルの構築および精密化を現在進めているところである。