

銅置換ラットジペプチジルペプチダーゼ III における 銅イオンの配位構造の変化が酵素の活性発現に重要である。

廣瀬順造*、秦 季之*、川岡知恵**、
池浦知宏**、北原 卓**、富田久夫*、
岩本博之**、小野行雄*、深澤加與子***

Archives of Biochemistry and Biophysics, **525** (2012) 71–81

Flexibility of the coordination geometry around the cupric ions in Cu(II)-rat dipeptidyl peptidase III is important for the expression of enzyme activity

Junzo Hirose*, Toshiyuki Hata*, Chie Kawaoka**,
Tomohiro Ikeura**, Suguru Kitahara**, Hisao Tomida*,
Hiroyuki Iwamoto**, Yukio Ono*, and Kayoko M. Fukasawa***

ABSTRACT: Dipeptidyl peptidase III (DPP III), the zinc peptidase, has a unique helix portion in the metal-binding motif (HELLGH). The enzyme activity of the cupric derivative of rat DPP III (Cu(II)-rat DPP III) for Lys-Ala-β-NA is about 30% of that of the wild-type enzyme. On the other hand, the enzyme activity of Cu(II)-rat del-DPP III, in which Leu453 is deleted from the metal-binding motif, possesses only 1~2% of the enzyme activity of rat del-DPP III. The EPR spectra of Cu(II)-rat DPP III in the presence of various concentrations of the substrate, Lys-Ala-β-NA, changed dramatically, showing formation of the ternary complex. The EPR spectra of Cu(II)-rat del-DPP III did not change in the presence of excess Lys-Ala-β-NA. The deletion of Leu453 from the HELLGH motif of rat DPP III leads to a complete loss of flexibility in the ligand geometry around the cupric ions. Under the formation of the ternary complex, Glu451 of Cu(II)-rat DPP III is sufficiently able to approach the water molecule via a very different orientation from that of the resting state; however, Glu451 of Cu(II)-rat del-DPP III is not able to access the water molecule.

抄録 ジペプチジルペプチダーゼ III(DPP III) は、亜鉛酵素であり特有な新奇な亜鉛結合モチーフ配列 (HELLGH) を持つ。この酵素中の亜鉛イオンを銅イオンに置き換えた銅置換体 (Cu(II)-DPP III) は、天然の酵素の約 30% の活性を発現する。しかし、部位特異的変異で亜鉛結合モチーフ配列 (HELLGH) の Leu を除去し、一般的な亜鉛結合モチーフ配列 (HExxH) と似たモチーフ配列 (HELGH) に変異した del-DPP III を作成し、銅置換体 (Cu(II)-del-DPP III) の酵素活性を測定すると、天然の酵素の 1~2% の酵素活性しか示さなかった。この理由を明らかにするために、種々の濃度の基質存在下で Cu(II)-DPP III と Cu(II)-del-DPP III の EPR スペクトルを測定した。Cu(II)-DPP III の EPR スペ

クトルは基質存在下で大きく変化したが、Cu(II)-del-DPP III の EPR スペクトルは全く変化を示さなかった。これより、酵素活性を発現する Cu(II)-DPP III では、基質存在下で銅の配位構造が変化したのに対し、Cu(II)-del-DPP III では基質存在下でも銅の配位構造が変化せず、酵素中の銅の配位構造の柔軟性が銅置換酵素の活性発現に大きく影響している事が判った。

* Faculty of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Fukuyama University

** Faculty of Life Science and Biotechnology, Fukuyama University,

*** Department of Hard Tissue Research, Graduate School of Oral Medicine, Matsumoto Dental University