

紫外可視吸収および共鳴ラマン分光法によるチロシンヒドロキシラーゼのキラルアミノ酸認識の観測

(阪大理¹・阪大院理²) ○小野塚幸菜¹・石川春人²・入谷悠²・水谷泰久²

Recognition of Amino Acid Chirality by Tyrosine Hydroxylase observed by UV-Visible Absorption and Resonance Raman Spectroscopy (¹*School of Science, Osaka University*, ²*Graduate School of Science, Osaka University*) ○Yukina Onoduka,¹ Haruto Ishikawa,² Yu Iritani,² Yasuhisa Mizutani²

The enzyme normally recognizes only L-amino acids and not their mirror isomers, D-amino acids. Tyrosine hydroxylase (TyrH) is a heme-dependent L-tyrosine (L-Tyr) hydroxylase. To investigate whether TyrH recognizes not only L-Tyr but also D-Tyr, we compared the state of heme in TyrH-Tyr complexes using UV-visible absorption and Resonance Raman spectroscopy. The results revealed that TyrH recognized D-Tyr as well as L-Tyr but in a different fashion. The interactions of D-Tyr with TyrH obtained by computations and the experimental results of the reaction of D-Tyr catalyzed by TyrH also suggested that TyrH recognized both L-Tyr and D-Tyr.

Keywords : Resonance Raman spectroscopy; Chirality

生体内酵素は通常、Lアミノ酸のみを認識し、その鏡像異性体であるDアミノ酸は認識しない。チロシンヒドロキシラーゼ (TyrH) は、ヘム依存性のL-チロシン (L-Tyr) 水酸化酵素である¹⁾。酵素中でヘムは基質結合ポケットの一部を構成する。本研究では、TyrHがL-Tyrだけではなく、D-Tyrも認識するかどうか調べるために、L-TyrとD-Tyr添加時のヘムの状態を紫外可視吸収および共鳴ラマン分光法を用いて比較した。その結果、D-Tyr添加時の吸収スペクトルとラマンスペクトルは、基質を添加していない時とL-Tyr添加時のどちらのスペクトルとも異なっていた。特に、Tyrを添加していない時に比べてL-Tyr、D-Tyr添加時では、ヘムの側鎖ビニル基の伸縮振動バンド、ヘム骨格のC=C伸縮振動バンドの波数に明白な違いが見られた。これらの違いはアミノ酸としてL-フェニルアラニン、L-アルギニンを添加したときには見られなかったことから、L-Tyr、D-Tyrともに基質結合ポケットに結合し、ヘムと相互作用していることを反映していると考えられる。さらに、L-Tyr添加時とD-Tyr添加時の共鳴ラマンスペクトルでは、ヘム骨格のC=C伸縮振動バンドの波数に違いが見られた。このことから、TyrHはD-Tyrも認識するが、その相互作用様式はL-Tyrの場合とは異なっていると考えられる。安定構造の計算からも、D-TyrはL-Tyrと同様にTyrHの基質結合ポケットで安定にヘムと相互作用することがわかった。さらに、TyrHによる水酸化反応の実験から、TyrHはD-Tyrの水酸化反応も触媒できることがわかった。これらの結果も、TyrHがD-Tyrも認識するというを示唆していた。

1) Molecular Rationale for Partitioning between C-H and C-F Bond Activation in Heme-Dependent Tyrosine Hydroxylase. Y. Wang, I. Davis, I. Shin, H. Xu, and A. Liu, *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 4680-4693.