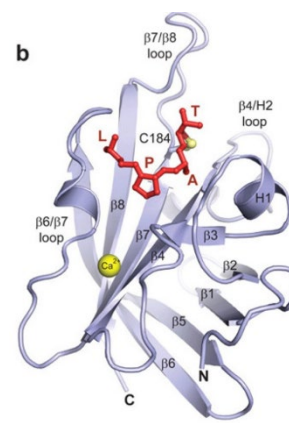


1. Oligoglycine が Sortase A に結合している結晶構造を知りたいです。

探しましたが、残念ながら SortaseA に結合している構造が見つかりませんでした。理由として考えられるのは、SortaseA の触媒反応において、認識配列である LPXTG との反応が律速段階であるため、Oligoglycine は反応後、生成したペプチドとしてすぐ Sortase から離れ、結合状態の保持できないと考えられます。

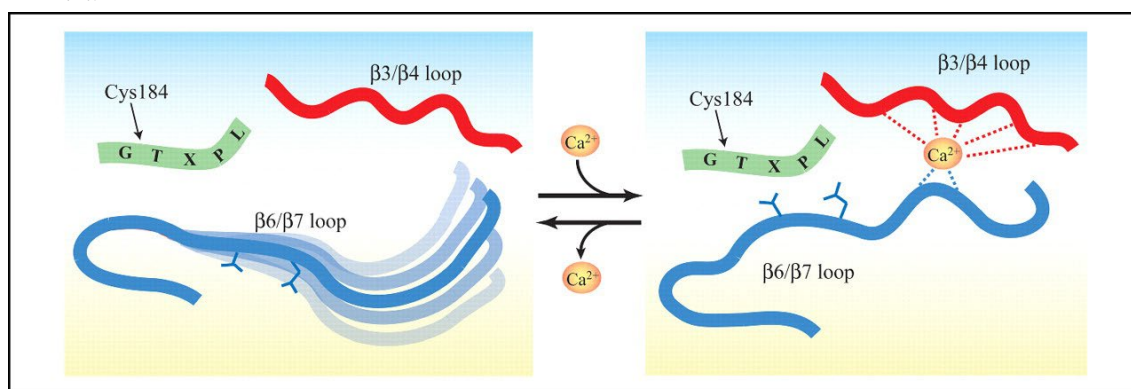
ですが、LPXT の認識配列と結合している NMR 構造は見つかりました。右に載せましたので、参考にしてください。



(Suree, N.; Clubb, R.T. *et al. J. BIOL. CHEM.* **2009**, *284*, 24465-24477)

2. Srt タンパクに含まれている Ca イオンの役割は何ですか？

WT のソルターゼにおいて、Ca²⁺は配列の認識に関与しています。Ca²⁺の結合により、配列認識に関与している $\beta 6/\beta 7$ ループが安定化され、閉じた構造を取ります。Ca²⁺が離れると、安定化されたループが開き、柔軟性の高い構造を取ります。ソルターゼの活性は Ca²⁺に依存しているといっても過言ではないが、現在 Ca²⁺依存しないソルターゼも開発されました。



(Naik, M. T.; Clubb, R.T. *et al. J. BIOL. CHEM.* **2006**, *281*, 1817-1826)

3. Dual labeling の応用は何ですか？

Dual labeling は同一分子に対して二重標識するより、系中に二つの標識を入れることが普遍的な応用だと思います。今回の Dual labeling はある系に対し、ピリンモチーフを持つ分子と oligoglycine を持つ分子に対し、基質特異的に標識できることを説明したかったです。

4. p18 で Ub(LPT)や Ub(L)AT は過剰量必要ですか？

はい、そのようです。原文では、Ub(LPT)や Ub(L)AT は Ub-GGK (20 μ M) の 5 倍 (100 μ M)と書いてありました。

5. P22,なぜ下に 2 本のバンドが現れると直交活性があると言えるのでしょうか？

セミナー中間違った説明をしてしまい、申し訳ございません。

すべてのソルターゼは、独自の認識配列を表示する diUb に対して加水分解活性を示します。下のバンドで、Srt2A と Srt5M は自分の認識配列を持つ分子にのみ分解活性を示しますことから、直交活性があると説明されていました。