

水素細菌由来炭酸固定酵素複合体 KOR の X 線結晶構造解析 Structure determination of carbon dioxide fixation enzyme complex KOR from *Hydrogenobacter thermophiles*.

宮園健一,¹ 石井正治,² 田之倉優^{1*}

¹ 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

² 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命工学専攻 〒113-8657 東京都文京区弥生 1-1-1

Ken-ichi Miyazono,¹ Masaharu Ishii² and Masaru Tanokura^{1*}

¹Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan.

²Department of Biotechnology, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo, 1-1-1 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo, 113-8657, Japan.

1 はじめに

Hydrogenobacter thermophilus は、CO₂ を唯一の炭素源として生育することが可能な好熱性水素細菌であり、低炭素化社会の実現に向けて、その炭酸固定化能が注目されている。*H. thermophilus* 由来炭酸固定酵素複合体の一つである KOR は、分子量約 60,000 の α ドメインと分子量約 40,000 の β ドメインからなる高分子複合体で、水素細菌における還元的 TCA 回路において、フェレドキシンを電子供与体として利用し、スクシニル CoA と CO₂ から 2-オキソグルタル酸を合成する反応を触媒する(図 1)。

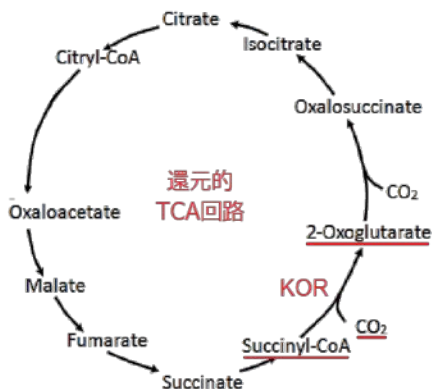


図 1 : 水素細菌に見られる還元的 TCA 回路

本研究では、生物の中心的代謝において普遍的に見られる脱炭酸反応の逆反応がどのような機構によって行われるかを構造学的な観点から解明するため、KOR の立体構造を X 線結晶構造解析法により決定しようとした。構造解析によって得られる情報は、その触媒機構の解明にとどまらず、構造に基づいた機能改変を通じて、より効率的な炭酸固定能を有した新規改変型酵素の創出にもつながると期待される。

2 実験

H. thermophilus 由来炭酸固定酵素複合体 KOR の結晶を作製し、Photon Factory の構造生物学ビームラ

イン (BL-5A, BL-1A, AR-NW12A, AR-NE3A) を利用して、X 線回折データの取得を行った。KOR は立体構造既知のタンパク質と相性がなかったため、その立体構造は、白金誘導体結晶を利用した多波長異常分散法により決定した。結果、2.3 Å の分解能で KOR の立体構造を決定することができた。

3 結果および考察

X 線結晶構造解析の結果、KOR は $\alpha 2 \beta 2$ のヘテロ 4 量体を形成していることが示された(図 2)。活性部位は、 α ドメインと β ドメインの界面に存在しており、ヘテロ 4 量体の中で、二つの活性部位が独立して存在していた。KOR は補酵素としてチアミンピロリン酸 (TPP) を用い炭酸固定反応を触媒するが、今回の構造解析では、KOR-TPP 複合体の立体構造を決定できなかった。活性部位の構造を解明するため、得られた KOR 構造と基質や補酵素のドッキングシミュレーションを行ったところ、KOR による補酵素・基質認識機構に関わるいくつかのアミノ酸残基を特定することができた。これらの残基は還元的 TCA サイクルに見られる炭酸固定化反応に重要であると予想される。



図 2 : KOR 複合体の結晶構造

4 まとめ

本研究では、水素細菌由来炭酸固定酵素 KOR の立体構造を世界に先駆けて決定することに成功した。KOR の立体構造を精査することによって、効率的な炭酸固定化反応に関わる構造基盤が明らかになると期待される。

謝辞

X 線解析実験を行うにあたり、ご協力くださった Photon Factory のスタッフの方々に深くお礼申し上げます。

* amtanok@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp