

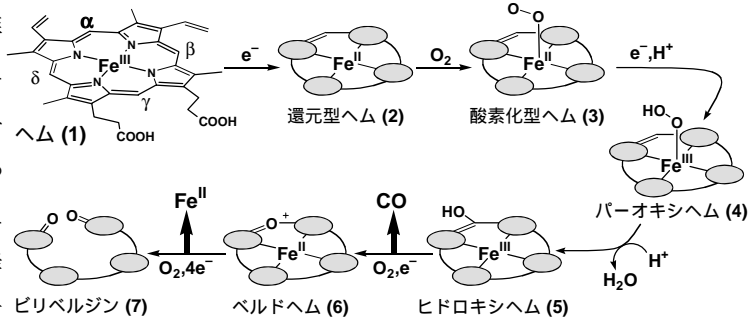
03G118 ヘムオキシゲナーゼの反応中間体および変異体の構造解析

Structural analysis of reaction intermediates and mutants of heme oxygenase

東北大学・多元研 ○海野昌喜、松井敏高、齋藤正男

○ Masaki Unno, Toshitaka Matsui, & Masao Ikeda-Saito, IMRAM, Tohoku Univ.

ヘムオキシゲナーゼ(HO)は、不要になったヘム(鉄—ポルフィリン錯体)を一酸化炭素・鉄・ビリベルジンに分解するタンパク質であり、鉄の恒常性維持・抗酸化ストレス・シグナル伝達などに重要である。ヘムオキシゲナーゼによるヘム分解は多段階にわたる複雑な反応であり(右図)、ヘムの α メソ位のみ選択的に水酸化してヘムを分解に導くなど、他の酵素には見られない特異な機構で進行する。



HmuO はジフテリア菌由来の HO である。ジフテリア菌のような病原性細菌は、HO を使って宿主のヘムを分解することで生存・増殖に必須な鉄を獲得しているのである。

我々は、本酵素の反応機構をより詳細に理解するために、反応解析や分光学的な研究と併せて、結晶構造解析を行ってきた。本シンポジウムでは、現在得られている結果のうち以下のような内容を報告する。

反応中間体の結晶構造解析

HmuO の反応中間体として、酸化型ヘム(3)、ビリベルジン(7)と HmuO の各複合体と、ヘムを結合していないアポ型 HmuO の結晶構造により明らかになったこと、またトラップの難しい反応中間体の結晶構造解析の方法について発表する。この酵素による反応は、電子と酸素が共存すると進行してしまうため、結晶の中で一連の反応中間体を捕らえることが難しい。そこで、我々はグローブボックスを有効に用いること、そして単結晶用の顕微分光器を用いることなどの工夫で、難解な HmuO 反応中間体の一つである酸化型ヘム(3)-HmuO 複合体の高分解能の結晶解析を行うことに成功した。また、酸化型(3)結晶に低温で X 線を照射する事により結晶中で還元反応を起こしパーオキシ型ヘム(4)を生成させる実験とその構造解析の初期的な結果についても報告する。

変異体の結晶構造解析

哺乳類の HO の研究から、ヘムを挟み込んでいる遠位側のヘリックスにあるアスパラギン酸 140(HmuO では Asp136)のカルボキシル基がヘム分解には必須であるという提案がなされてきた。しかし、細菌の HO の中にはその周辺にカルボキシル基を持たないものがあり、それらも同様にヘム分解を行う。そこで、我々は HmuO の Asp136 をグルタミン酸、アスパラギン、アラニンに変異させた酵素(D136E, D136N, D136A)の結晶構造解析を行い、生化学的なデータと併せ、その反応機構の詳細に迫った。分光学的と結晶構造解析の総合的な結果から、カルボキシル基が重要であるというより、むしろ、ヘムの配位水の近傍にある水分子の重要性が明らかになった。