

フェレドキシン還元酵素の反応中間体構造

千田美紀¹、岸上晋也²、木村成伸³、千田俊哉⁴

(¹ JBIC・JBIRC, ² 兵庫県立大・生命, ³ 茨大・工, ⁴ 産総研・BIRC)

電子伝達反応は、光合成、呼吸、低分子化合物の分解代謝など、生体内の重要な反応に関与しており、応用的価値も高いことから古くから多くの研究が進められてきている。このため多くの電子伝達蛋白質の結晶構造が決定されてきた。生体内の電子伝達系の場合、多くのものが FAD, NADH を電子供与（受容）体として用いている。しかしながら、これらの補酵素がどのようにして電子伝達反応を制御しているのかを、立体構造に基づき詳細に示した例はない。様々な実験から、FAD の構造が酸化還元により変化することが知られてきているが、実際に蛋白質中でどのような変化をし、これが蛋白質の機能にどのような影響を与えているかは不明であった。今回我々は、芳香族化合物分解系にみられる電子伝達蛋白質について、フェレドキシン還元酵素（BphA4）に含まれる FAD が酸化還元サイクルの中で構造変化することを実際に示し、この構造変化と機能が密接に関与していることを立体構造的に明らかにしたので報告する。

BphA4 は *Pseudomonas* sp. strain KKS102 由来のピフェニルジオキシゲナーゼのフェレドキシン還元酵素コンポーネントであり、その結晶構造は我々のグループにより 5 年前に 2.3Å 分解能で明らかにされている。しかし、2.3Å 分解能の解析では電子伝達のメカニズムについて考察するには不十分であった。そこで、今回我々は、フェレドキシンとフェレドキシン還元酵素との間の電子伝達メカニズムについてより深い知見を得るためにフェレドキシン還元酵素(BphA4)の高分解能での構造解析を試み、酸化型、2 電子還元型、1 電子還元型、再酸化型についてそれぞれ 1.30Å, 1.52Å, 1.55Å, 1.70Å 分解能で構造を決定した。また、フェレドキシン(BphA3)とフェレドキシン還元酵素(BphA4)との複合体結晶の作成にも成功しており、現在構造解析中である。

電子密度から酸化型では FAD のイソアロキサジン環が平面構造であることが確認できたが、2 電子還元型、1 電子還元型ではイソアロキサジン環が折れ曲がり N10 が sp³ 窒素になっていることが示唆された。またそれに伴い FAD のリピチル鎖にもコンフォメーション変化が生じていた。これらの結果から、触媒反応中に FAD のイソアロキサジン環が平面構造から折れ曲がり構造になり、反応後に平面構造に戻るバタフライ型の構造変化を生じていると考えられる。さらにタンパク質の構造を詳細に解析した結果、FAD の構造変化に伴い、BphA4 の NADH 結合ドメインの動的性質が変化し、電子伝達反応の制御をしているということが示唆された。これらの構造変化がフェレドキシンとの相互作用にも関係していることを示唆する結果も得ている。