

蛋白構造解析ユーザーグループ

フェレドキシン-フェレドキシン還元酵素複合体の X 線結晶構造解析

千田美紀¹、岸上晋也²、木村成伸³、石田哲夫⁴、福田雅夫⁵、千田俊哉⁶

(¹ JBIC・JBIRC, ² 兵庫県立大・生命, ³ 茨大・工, ⁴ 滋賀医大, ⁵ 長岡技大, ⁶ 産総研・BIRC)

フェレドキシン還元酵素(FNR)とフェレドキシン(Fdx)との間の電子伝達反応は、エネルギー代謝や生合成 / 生分解など、生体内の重要な反応に参与している。FNR は FAD を電子伝達体として用い、NADH から受け取った電子を Fdx に伝達する。FNR と Fdx との間のインタラクションは弱く一時的であるが、その会合と解離は FNR と Fdx の酸化還元依存に制御されている。このような弱く一時的なインタラクションは生物学的なシグナリングの典型的な例であり、その分子機構については多くの研究が行われてきた。しかし、電子伝達反応の間の構造情報が欠けていたために連続的に生じる会合と解離の分子機構は不明であった。そこで我々のグループでは、FNR と Fdx との会合 / 解離の分子機構を明らかにするために、*Pseudomonas* sp. strain KKS102 由来のビフェニルジオキシゲナーゼ BphA の電子伝達系を構成する BphA3(Fdx)、BphA4(FNR)及びその複合体の X 線結晶構造解析を行うことにした。

今回、我々は KEK フォトンファクトリーのビームライン NW12A、BL-5A、BL-6A を利用して、電子伝達反応の中間体である BphA3-BphA4 複合体の構造を 1.9Å 分解能で決定した。その結果、FAD(FNR)から [2Fe-2S] クラスタ (Fdx) への電子伝達は、FAD と [2Fe-2S] クラスタの間に存在する Trp320(FNR)、His66(Fdx) との間の π - π インタラクションを用いて行われることが明確に示された。また、得られた構造は FNR から Fdx へ電子が渡された後の状態、つまり酸化型 BphA4(FNR)と還元型 BphA3(Fdx)の複合体であることが示唆された。複合体構造中の BphA3 と BphA4 の酸化状態を知ることができた理由は、BphA3 単体について 2 つの酸化状態 (酸化型 / 還元型)、BphA4 単体について反応サイクル中の 4 つの中間体 (酸化型 / 二電子還元型 / 一電子還元型 / 再酸化型) の構造解析にも成功したためである。

我々が明らかにした BphA3-BphA4 複合体、BphA3、BphA4 の結晶構造のスナップショットから、電子伝達反応によって生じる BphA4(FNR)、BphA3(Fdx)の構造変化のカスケードを示すことができた。つまり、NADH から FAD への電子伝達が BphA4 の構造変化を引き起こし BphA3 との会合を促進し、FAD から [2Fe-2S] クラスタへの電子伝達が BphA3 の構造変化を引き起こし BphA4 からの解離が促進されるようである。今回、電子伝達反応で生じた段階的な構造変化は、生物学的なシグナリングにもみられる一時的な相互作用の一般的な機構の理解にも影響を与えると考えられる。