

## 電子伝達タンパク質間の酸化還元依存的な親和性調節機構の解明

千田美紀<sup>1</sup>、木村成伸<sup>2</sup>、石田哲夫<sup>3</sup>、福田雅夫<sup>4</sup>、千田俊哉<sup>5</sup>

(<sup>1</sup>バイオ産業情報化コンソーシアム,<sup>2</sup>茨大・工,<sup>3</sup>滋賀医大,<sup>4</sup>長岡技大,<sup>5</sup>産総研・BIRC)

タンパク質分子間の電子伝達反応は、「光合成系」、「呼吸鎖」、「各種分解代謝系」など生体内の多くの反応系に存在しており、生物の生存に必須の反応である。電子伝達タンパク質によって形成される電子伝達複合体の結合は弱く一過性で、その親和性は電子伝達タンパク質の酸化還元状態に依存して調節されることが知られている。しかし、酸化還元状態依存的な構造変化と親和性調節機構の関連を明らかにした例はなく、電子伝達タンパク質間で生じる会合と解離の分子機構は謎のままであった。これは、通常の好気条件下では反応中間体を取り出すことが難しく、反応中間体構造の決定が困難であることと無関係ではない。我々のグループでは嫌気条件下での結晶化などの技術を駆使することでこの問題に取り組んできた。電子伝達系としては、芳香環水酸化ジオキシゲナーゼ BphA の電子伝達タンパク質である BphA3 (フェレドキシン) 及び BphA4 (フェレドキシン還元酵素) を用いた。

嫌気条件下での相互作用解析の結果、還元型 BphA4 は酸化型 BphA4 に比べて BphA3 に対して 20 倍強い親和性を持つことが明らかになった。この親和性調節機構を立体構造に基づいて明らかにするために、我々のグループでは反応サイクル中に現れる全ての反応中間体の X 線結晶構造解析を進めてきた。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、BL-17A を利用して、電子伝達の際に形成される BphA3-BphA4 複合体に加え、BphA4 については 4 種類 (酸化型、二電子還元型、一電子還元型、再酸化型)、BphA3 については 2 種類 (酸化型、還元型) の反応中間体構造を決定した。そして、これらの構造の比較を詳細に行うことで、電子伝達タンパク質の構造が反応の進行とともに変化し、分子間相互作用が調節される様子を示すことができた。BphA の電子伝達系では、NADH → BphA4 → BphA3 の順番で電子伝達が生じるが、NADH から BphA4 への電子伝達反応が BphA4 の BphA3 結合部位の構造変化を引き起こし、さらにその構造変化が BphA4 から BphA3 への電子伝達反応を引き起こすというような、構造変化と化学反応の連鎖が両者の親和性調節機構のキーポイントであると考えられる。

## Reference

Senda, M., Kishigami, S., Kimura, S., Fukuda, M., Ishida, T. & Senda, T. (2007) *J. Mol. Biol.* **373**, 382-400.