

光非依存型(暗所作動型)プロトクロフィリド還元酵素のX線構造解析

○村木則文¹, 野亦次郎², 志波智生¹, 藤田祐一², 栗栖源嗣¹

¹東大院・総合文化, ²名大院・生命農

光合成は地球上のほとんど全ての生物が直接、間接に依存している非常に重要な生体反応である。その光合成において、光エネルギーを化学エネルギーに直接変換している分子がクロロフィルである。

しかしながら、クロロフィルの生合成経路は反応中間体の不安定性や酵素の酸素感受性などにより、近年まで生化学的詳細が明らかになっていなかった。クロロフィル合成系の中でもプロトクロフィリドの還元反応はテトラピロール環をクロリン環に変換し、クロロフィル前駆体が黄色から緑色へ変換される非常に重要な反応である。この反応には、光に依存する経路と光に依存しない経路が存在し、それぞれ光依存型プロトクロフィリド還元酵素 (LPOR) と光非依存型プロトクロフィリド還元酵素 (DPOR) と呼ばれている。LPORとDPORは相同性は無く、全く異なるメカニズムで基質を認識し、独立の分子機構で立体特異的な二重結合還元を触媒していると考えられている。しかし、クロロフィル合成系酵素の構造解析の報告はなく、いずれの反応メカニズムについても構造的な知見は得られていない。

DPORは、ニトロゲナーゼと類似性を示す BchL, BchN, BchB の3つのタンパク質により構成され、BchNとBchBがヘテロ4量体を形成し触媒コンポーネントNB-蛋白質として作動する。本研究では、DPORのプロトクロフィリド還元メカニズムについての構造的知見を得るために光合成細菌 *Rhodobacter capsulatus* 由来 DPOR のNB-蛋白質の構造解析を行った。

*R. capsulatus*から基質を結合した状態のNB-蛋白質を精製して、結晶を作製し、KEK PF-ARビームライン NW-12A で 2.3Å 分解能の回折データを収集した。さらに、大腸菌発現系を利用して基質を結合していない状態のNB-蛋白質の結晶を作製し、同 PF ビームライン BL-5A で 2.8Å 分解能の回折データを収集した。

構造解析で得られた立体構造は、ヘテロ4量体構造をとり、[4Fe-4S]クラスターが BchN と BchB の間に結合していたが、非常に意外なことに BchN の3つの Cys の他に BchB の Asp 残基がクラスターに配位していることが確認された。

基質結合型と非結合型の比較から、基質結合に伴って BchB が大きく構造変化することも分かった。主に疎水的な相互作用によってプロトクロフィリドは結合しており、BchBのC末端ヘリックス以外には極性アミノ酸から直接的に相互作用はないこともわかった。発表では、これら原子レベルの構造情報をもとに、DPORの反応機構とニトロゲナーゼ類似酵素の構造基盤について議論する。