

緑色硫黄細菌 *C. tepidum* 由来フェレドキシン-NADP⁺還元酵素の構造解析

村木則文¹, 瀬尾悌介², 志波智生¹, 桜井武², ○栗栖源嗣¹

1 東大院・総合文化, 2 金沢大院・理

フェレドキシン-NADP⁺還元酵素 (FNR) はフェレドキシン (Fd) と NADP⁺間の酸化還元反応を触媒する酵素である。特に、酸素発生型の光合成電子伝達で機能する葉緑体型 FNR について生化学的な研究が豊富であり、構造-機能の相関についても古くから研究されてきた。光合成電子伝達では、FNR への電子供与体は Fd であり、Fd に電子を渡す反応中心は、葉緑体と光合成細菌 *Chlorobium tepidum* とで祖先は共通であるといわれている。しかし、*C. tepidum* ゲノムに葉緑体型 FNR のホモログが存在しないことから、新規 FNR の存在が予想されていた。2002 年に酵素学的に見出された *C. tepidum* の FNR は、Fd に依存した NADP⁺還元活性を持つが、アミノ酸配列上では、葉緑体型 FNR よりもチオレドキシンレダクターゼ (TR) と高い相同性を有していた。本研究では、TR と高い相同性を有する *C. tepidum* FNR の Fd 依存性についての構造的知見を得るために、*C. tepidum* FNR の構造解析を行った。

C. tepidum の FNR を大腸菌で発現させ、精製・結晶化を行い、2 種類の結晶を得た (Form I, Form II)。Form I の結晶から、2.4 Å 分解能の回折強度データが得られた。さらに、*C. tepidum* FNR のセレンメチオン誘導体結晶を作製し、KEK PF のビームライン NW-12A で Se の異常分散データを収集し、SAD 法による構造解析に成功した。

C. tepidum FNR は FAD 結合ドメインと hinge 領域でつながった NADP 結合ドメインからなり、TR に類似した二量体を形成していた。*C. tepidum* FNR には TR には保存されていない C 末端領域があり、隣接する分子が保持する FAD にまで伸びてヘリックスを形成していた。このヘリックス上の Phe227 は FAD のイソアロキサジン環に stack し、Ser338 と Ser339 はイソアロキサジン環と水素結合を形成していた。イソアロキサジン環に stack するアミノ酸は TR には無く、葉緑体型 FNR によく保存されていることから、Fd 認識に共通する構造基盤であると考えられる。

また、二量体を形成する 2 分子間で、ドメインの配置が 39.8°異なっていた。基質認識に伴うドメイン移動が *Escherichia coli* 由来 TR で報告されており、*C. tepidum* FNR においても Fd 認識に伴う構造変化があると考え、考察を進めている。