

## Novosphingobium sp. KA1 株由来芳香環水酸化酵素に含まれる 特異的フェレドキシンの機能の構造生物学的説明

梅田隆志<sup>1</sup>、香月隼一<sup>1</sup>、芦川雄二<sup>2</sup>、井上謙吾<sup>1</sup>、宇佐美裕亮<sup>1</sup>、野口治子<sup>1</sup>、寺田透<sup>3</sup>、藤本瑞<sup>4</sup>、  
山根久和<sup>1</sup>、野尻秀昭<sup>1</sup> (<sup>1</sup>東大・生セ、<sup>2</sup>理研、<sup>3</sup>東大院・アグリバイオ、<sup>4</sup>生資研)

Carbazole 1,9a-dioxygenase (CARDO)は、カルバゾールに対する二原子酸素添加反応を触媒する。CARDO は酸素添加酵素 (Oxy)と、電子伝達系である ferredoxin reductase (Red)、ferredoxin (Fd)から構成され、Rieske non-heme iron oxygenase (RO)という酸化酵素群に分類される。RO は電子伝達系の種類により、さらに IA、IB、IIA、IIB、III の5つのクラスに分類されるが、当研究室では電子伝達系の異なる、IIA、IIB、III に属する3種の CARDO を取得している。同一の基質の酸化酵素として取得された RO において電子伝達系に多様性がある例は他になく、CARDO は RO の電子伝達機構を明らかにする上で格好の材料であると考えられる。CARDO の電子伝達系の互換性の解析から、IIB 型、III 型の CARDO においては、Ox-Fd 間の認識は厳密で異なるクラスの組み合わせの場合は電子が伝達されない一方、Fd-Red 間では異なる組み合わせでも電子が伝達されることが明らかになった。これは他の RO でも同様の傾向を示す。KA1 株由来 IIA 型 CARDO の場合は、Ox-Fd 間の認識が厳密であることは同様であったが、予想に反して IIA 型 Fd は他のクラスの Red から電子を受け取ることが出来なかった。すなわち、IIA 型 Fd は電子伝達のカウンターパートとの認識が厳密であるという他の Fd には無い特徴を持つ。この様な、CARDO 電子伝達選択性の分子メカニズムを明らかにするため、IIA 型 Fd の結晶構造解析を行い既に構造が明らかとなっている IIA 型 Oxy、Red との電子伝達複合体の構造予測を行った。

IIA 型 Fd の結晶構造を分解能 1.9 Å で取得し、ZDOCK により Oxy:Fd、Fd:Red 電子伝達複合体のドッキングシミュレーションを行った。IIA 型 Oxy:Fd 複合体との比較には結晶構造が得られている III 型 CARDO の Oxy:Fd 複合体を用い、IIA 型 Fd:Red 複合体は IIB 型 biphenyl 2,3-dioxygenase の BphA3 (Fd):BphA4 (Red)複合体との比較を行った。比較に用いたものはいずれも IIA 型とは Fd のタイプが異なり、IIA 型は putidaredoxin-type ferredoxin であり、III、IIB 型は Rieske-type ferredoxin である一方、Oxy や Red は相溶性が高い。このように異なる Fd との結合様式を比較することで、複合体形成に重要な要因が明らかになると考えられる。

結果として、Oxy:Fd 複合体での相互作用領域では IIA 型、III 型共に鍵と鍵穴の様に表面の形状が一致していることと、表面電荷が互いに相補しあっていることが観察された。一方、Red:Fd 複合体では、表面の形状が一致していたが、Oxy:Fd 複合体の時とは異なり、それほど表面電荷の相補性は見られなかった。

このことから、電子伝達複合体形成に関わる要因として、Oxy-Fd 間では複合体形成には相互作用表面の形状と電荷分布の両方が重要であり、そのためクラスの異なる組み合わせでは電子伝達が起こらないと考えられるが、Fd-Red 間では形状の寄与が大きく、そのため形状の似ている Fd では、その電荷分布が異なるにも関わらず電子伝達が起こると考えられる。IIA 型 Fd が他のクラスの Red から電子を受け取ることが出来ない要因としては、IIA 型 Fd における相互作用表面の形状が他のクラスの Fd と大きく異なるために複合体が形成されないからであると示唆される。