

ヒドロゲナーゼ成熟化因子 HypA の構造生物学的研究

渡部 聡¹・新井崇之¹・松見理恵²・跡見晴幸²・今中忠行³・三木邦夫¹
(¹京大・院理, ²京大・院工, ³立命大・生命科学)

[NiFe]ヒドロゲナーゼは、可逆的な水素代謝を触媒する酵素であり、細菌や古細菌におけるエネルギー代謝に関与している。ヒドロゲナーゼは、前駆体として合成された後に、特異的な成熟化因子Hypタンパク質(HypABCDEF)によってNiFe(CN)₂COクラスターが活性中心に組み込まれ、最終的にプロテアーゼによる修飾を受けて成熟化される。HypCDEFはCN基の生合成およびFe原子の組み込みに必須である。一方、HypAおよびHypBは、Ni原子の組み込みに関与している。生体内では、HypA-HypB複合体を形成し、HypBのGTPase活性が成熟化に必須であることは分かっているが、HypABによる詳細な組み込み機構については、不明な点が多い。

本研究では成熟化機構を原子レベルで解明するため、超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 由来 HypA の結晶構造解析を行った。HypAは溶液中では単量体および二量体として存在しており、今回それぞれの結晶構造を2.3Åおよび3.3Å分解能で決定した【1】。HypA単量体の全体構造は、Ni結合ドメインとZn結合ドメインで構成されており、全体構造で類似な構造は見当たらなかった。Zn結合ドメインは、3本のβ-ストランドと、ループ領域で構成されており、Zn fingerモチーフ(CXXCX₃₃CPXC)において、Zn原子を配位している。非対称単位中の独立な分子同士と比較から、保存されたNi原子結合モチーフのコンフォメーション変化によって、二つのドメイン間の相対配置が制御されていることが示唆された。また興味深いことに、HypA二量体は、C末のβ-ストランドが交差したdomain swappingにより形成されていることが分かった。単量体ではループ構造を取っていたアーキア特異的な挿入領域が、新たにヘリックス構造を取っており、二量体間の橋渡しを担っていた。さらに結晶中において、単量体による六量体が形成されており、水素結合や疎水的相互作用によって六量体は安定化されていた。これらの結果から、会合状態変化によるHypAの多様な機能発現機構が示唆された。

【1】S. Watanabe, et al., *J. Mol. Biol.* 394, 448–459 (2009)