

[NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化因子 Hyp タンパク質 複合体の結晶構造

Crystal structure of the Hyp protein complexes for [NiFe] hydrogenase maturation

渡部 聡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)

細菌による水素生産を触媒する[NiFe]ヒドロゲナーゼの NiFe(CN)₂CO 活性中心は、6つの成熟化因子タンパク質(HypABCDEF)によって生合成される。HypA および HypB は Ni 原子の組み込みに関与しており、残りの4因子(HypCDEE)は、Fe(CN)₂CO グループの生合成／組み込みに関与している。これまでに我々は、Fe 原子のシアノ化および組み込みに関与する HypC (メタロシャペロン)、HypD (鉄硫黄タンパク質)および HypE (シアノ基生合成／供与)の立体構造を決定し、HypD の保存されたシステイン残基による Fe 原子のシアノ化反応機構を提唱した (S. Watanabe et al., Mol. Cell, 27, 29, 2007)。この反応過程において、各因子は一時的に複合体を形成すると考えられているが、詳細な相互作用については不明点が多い。

本研究では、シアノ化反応機構を原子レベルでさらに解明するため、HypC, D, E 間の相互作用解析および複合体の X 線結晶構造解析を行った。相互作用解析の結果、HypC は HypD と 1:1 で比較的安定な複合体を形成することが分かった。HypCD 複合体の構造解析の結果、HypC の β-バレルドメインが、HypD の二つの α/βドメインに挟まれるように強く結合していることが分かった。

一方、HypE と HypCD 複合体との弱い相互作用を確認した。さらに複合体調製を工夫することで HypCDE 三者複合体の構造決定にも成功した。CDE 複合体においては、HypC の保存されたループ部分および HypD の α/βドメインが HypE の C 末ドメインと相互作用しており、HypCD 複合体形成が HypE との相互作用に必要であることが立体構造からも明らかになった。保存された HypC の N 末端および HypE の C 末端領域は、HypD の活性部位付近に位置しており、HypD を足場とする Fe 原子のシアノ化反応機構が強く示唆された。