

[NiFe]ヒドロゲナーゼ成熟化に関与する 新規 HypB の同定と構造解析

Identification and structure analysis of a novel HypB for [NiFe] hydrogenase maturation

佐々木大輔¹, 渡部聡¹, 松見理恵², 東海林寿久³, 安河内綾子²,
田頭健太³, 福田青郎³, 金井保², 跡見晴幸², 今中忠行³, 三木邦夫¹

¹京大・院理・化学, ²京大・院工・合成, ³立命大・生命・生物工学

[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、大小二つのサブユニットから成り、大サブユニットの活性中心にNiFeクラスターを有している。クラスターの生合成には成熟化因子 HypA, B, C, D, E, F が関与している。各因子の働きによって、段階的に Fe と Ni が組み込まれ、成熟化が完了する。バクテリアを対象とする研究から、HypB は HypA と共同して Ni を組み込む役割を担うこと、また、組み込みには、HypB の GTPase 活性が必須であることが分かっている。一方、いくつかのアーキアには、バクテリアの HypB 遺伝子と相同性の高い遺伝子が存在しない。しかしこれらアーキアには、HypA 遺伝子に隣接して、ヌクレオチド結合モチーフを含む遺伝子が保存されていることから、この遺伝子が HypB の機能的ホモログである可能性があった。我々は、超好熱性アーキア *Thermococcus kodakarensis* KOD1 由来のホモログ TK2007 遺伝子産物の機能同定および結晶構造解析を行った。

TK2007 遺伝子欠損株の増殖速度が、ヒドロゲナーゼの機能を必要とする条件において野生株と比較して著しく衰えたこと、さらに、この速度が Ni 存在下で野生株程度まで回復したことから、この遺伝子産物が *T. kodakarensis* における HypB (Tk-HypB) であることが明らかにされた。構造解析の結果、Tk-HypB は結晶の非対称単位中の二分子で構成されるホモダイマー構造であった。高濃度の GTP を含む条件から得られた結晶であったにも関わらず、それぞれの分子には大腸菌由来の ADP が結合していた。このことから、Tk-HypB は、これまでに知られている GTP 加水分解型 HypB とは異なり、ATP の加水分解によって機能する新規な HypB であることが示唆された。GTP 加水分解型 HypB との構造比較から、ATP 加水分解型 HypB に特有な領域が明らかとなったので、この領域の機能について報告する。