

タンパク質が金属を取り込んで成熟化するしくみを構造生物学で解明する

京都大学 大学院理学研究科 教授

三木 邦夫



研究の背景

生体内では金属原子をタンパク質に取り込んで、そのタンパク質が生体内反応の触媒として働くために利用しています。タンパク質に固有な機能を発揮させるには、金属錯体のかたちで取り込む場合もあります。このような生合成されたタンパク質への金属原子の取り込みには、特異な補助タンパク質が働いていることが知られています。タンパク質の触媒機能発現に必要な金属錯体などを組み込み、タンパク質を活性化させる過程を「成熟化」、この過程に関わる補助タンパク質を「成熟化因子」と呼びます。ヒドロゲナーゼは、多くのバクテリアやアーキアにおける水素の発生を担っており、その中にもつNiやFeなどの金属原子を触媒反応に利用している金属タンパク質です。その代表例である [NiFe] ヒドロゲナーゼの活性中心を構成する金属クラスターを図1に示します。このような [NiFe] クラスターのヒドロゲナーゼへの組み込みには、六つのHypタンパク質 (HypA、B、C、D、E、F) が働いていることが知られていましたが、それら成熟化因子の立体構造については解明されておらず、金属クラスターを取り込んでヒドロゲナーゼを成熟化する各段階における分子機構はほとんど明らかになっていませんでした。

研究の成果

ヒドロゲナーゼの成熟化では、まず、四つのHypタンパク質 (HypC、D、E、F) によって、Fe原子がシアノ化された後にヒドロゲナーゼに組み込まれます。さらに、残り二つの成熟化因子 (HypA、B) によってNi原子が組み込まれ、完了します。私たちはX線結晶解析によって、これらのHypタンパク質の分子構造をすべて決定し、ヒドロゲナーゼ成熟化の分子機構に重要ないくつかの構造生物学的な知見を得ることができました (HypA: *J. Mol. Biol.*, 394, 448-459, 2009,

HypB: *J. Mol. Biol.*, 425, 1627-1640, 2013, HypC, D, E: *Mol. Cell*, 27, 29-40, 2007, HypF: *Acta Crystallogr.*, F68, 1153-1157, 2012)。さらに、これらの成熟化タンパク質がその触媒作用を発揮するとき形成する二つの複合体状態 (HypCDおよびHypCDE複合体、図2) での構造解析 (*Structure*, 20, 2124-2137, 2012)、HypEにFe原子のシアノ基を結合する際の中間状態の構造解析 (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 20485-20490, 2013) にも成功し、これらの成熟化因子がどのような段階を経てヒドロゲナーゼに金属を取り込ませるのかを理解できました。

今後の展望

タンパク質は、生合成されただけでは、機能を発揮できないものが多く、金属タンパク質ではHypタンパク質のような成熟化因子が、機能発現に重要な役割を果たしています。今回、一連のHypタンパク質の結晶構造の決定とその分子機構の構造生物学的解明によって、タンパク質が成熟化するしくみを解明することができました。水素エネルギーは石油に代わる次世代エネルギー源として注目されており、ヒドロゲナーゼの研究は、新たな水素活性化触媒の開発につながる可能性が指摘されています。ヒドロゲナーゼが成熟化するしくみの全貌を、さらに詳しく解明していきたいと考えています。

関連する科研費

平成20-22年度 基盤研究 (A) 「金属タンパク質成熟化の構造生物学」

平成23-25年度 基盤研究 (A) 「ヒドロゲナーゼ成熟化の分子機構」

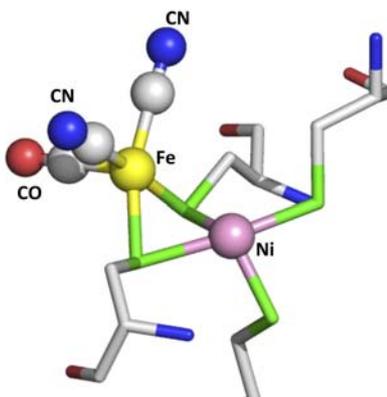


図1 [NiFe]ヒドロゲナーゼの活性中心にある金属クラスター。Fe原子には二つのシアノ基(CN)と一つの一酸化炭素(CO)が配位しており、Ni原子とともにシステイン残基を介してヒドロゲナーゼの大サブユニットに結合している。

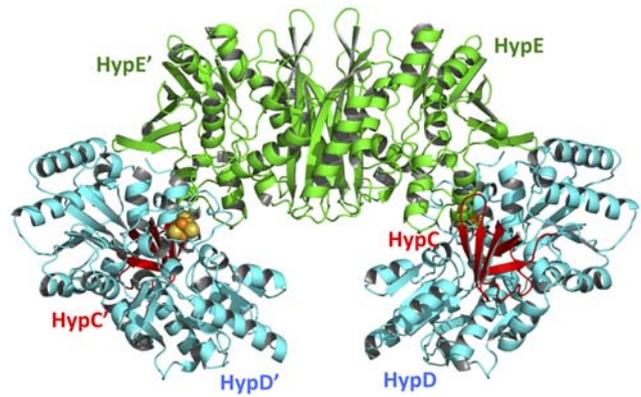


図2 HypCDE複合体の結晶構造。三つの成熟化因子、HypC、D、Eそれぞれ1分子が結合して、二量体として複合体になっている。このような複合体が、Fe原子をFe(CN)₂としてヒドロゲナーゼに組み込むと考えられる。