

## 結晶構造解析から見えてきた酸素耐性ヒドロゲナーゼの鉄-硫黄クラスターの仕組み

天尾 豊

ヒドロゲナーゼは水素分子の酸化とプロトンの還元を可逆的に触媒する酵素であり、可視光照射による水の分解に基づく水素生産やバイオ燃料電池の負極材料として有望視されている。ヒドロゲナーゼは水素生産菌や硫酸還元菌などに含まれおり、そのほとんどが酸素に対して感受性が高く、酸素によって活性が低下する。たとえば可視光照射によって水を分解し水素を生産することができても、同時に発生する酸素分子によってヒドロゲナーゼの活性が低下してしまう。これらのことから遺伝子工学的手法を駆使して、いかに酸素耐性を向上させるかが重要な研究対象となっており、いまだ有効な手立てがないのが現状である。

一方で、好気性水素酸化細菌が持つ膜結合型呼吸性 [Ni-Fe] ヒドロゲナーゼは本来の機能として酸素耐性を保持しており、細菌のペリプラズムに存在している。しかしながら、分子生物学および電気化学や分光学を基盤とした物理化学的手法を用いたこれまでの研究では、触媒活性中心が酸素分子による不可逆的不活性化からどのようにして保護されているか、そのメカニズムすら明確な解答は得られていない。

このような状況の中、2011年10月に日本とドイツの研究グループから異なる好気性水素酸化細菌が持つ膜結合型呼吸性 [Ni-Fe] ヒドロゲナーゼの高分解能X線構造解析の結果が相次いで発表され、酸素耐性メカニズムの謎が解き明かされつつある。Fritsch<sup>1)</sup>は好気性水素酸化細菌 *Ralstonia eutropha* H16由来の酸素耐性 [Ni-Fe] ヒドロゲナーゼの結晶構造を分解能 1.5 Å で、Higuchi<sup>2)</sup>は *Hydrogenovivrio marinus* 由来の酸素耐性 [Ni-Fe]

ヒドロゲナーゼの結晶構造を分解能 1.18~1.32 Å でそれぞれ決定している。[Ni-Fe] 活性部位のもっとも近傍に存在する鉄-硫黄クラスターは6つのシステイン残基が配位した [4Fe-3S] キュバン型構造をとっており、これまでの明らかにされてきたヒドロゲナーゼの4つのシステイン残基が配位した [4Fe-4S] キュバン型構造とはまったく異なるものであった (図1)。この部位以外は標準型の酸素感受性ヒドロゲナーゼと類似の構造をとっている。このことから独特な [4Fe-3S] キュバン型構造が酸素耐性に関与していることが明白である。

ではいかにして酸素耐性が保たれているのであろうか？ まず補因子 [4Fe-3S] キュバン型構造は活性部位に近づく気体分子の性質に依存する電子スイッチとして働き、水素分子の酸化過程での電子受容体として、また活性中心への酸素分子の攻撃に防御する電子伝達体としても機能していると考えられ、この2つの機能は3つの異なった酸化還元状態をとることができることが明らかになっている。結晶構造から水分子が入り込んで伸びたキャビティを形成するネットワークで、[Ni-Fe] 活性部位で生成される水分子の除去を促進する経路として機能している。さらに高分解能X線構造解析の結果から、[4Fe-3S] キュバン型構造を化学的に酸化するとペプチド骨格のアミド窒素1つが脱プロトンされて [4Fe-3S] 部位に配位することによって過酸化状態を安定化している。この部位は先に述べた触媒サイクルのための単なる電子伝達過程だけでなく、酸素分子の適切な還元に必要な2つの電子と1つのプロトンを供給し、ヒドロゲナーゼの活性化までに時間のかかる不活性状態になることを抑制している。

ヒドロゲナーゼは水素分子の酸化とプロトンの還元を可逆的に触媒する酵素であり学術的な興味もさることながら水素分子の貯蔵と生産を可能にするバイオエネルギー材料としても大きな魅力がある。今後さらにヒドロゲナーゼが工学的に取り扱いやすくなればさまざまな分野での利用が期待でき大いに楽しみである。

- 1) Fritsch, J. *et al.*: *Nature*, **479**, 249 (2011).
- 2) Shomura, Y. *et al.*: *Nature*, **479**, 253 (2011).

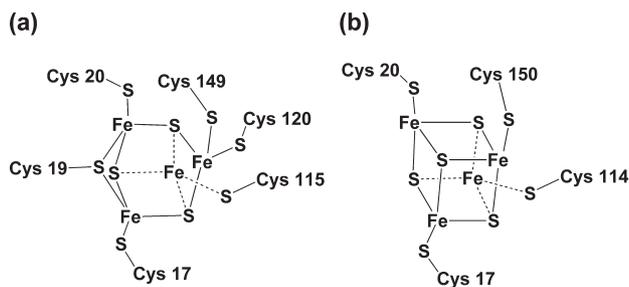


図1. [4Fe-3S] (a) および [4Fe-4S] (b) キュバン型構造