

月原 富武

兵庫県立大学大学院生命理学研究科
特任教授

ミトコンドリア呼吸鎖の構造生命科学－構造がもたらす正確さ

§ 1. 研究実施体制

(1) 兵庫県立大グループ

- ① 研究代表者: 月原 富武 (兵庫県立大学大学院生命理学研究科、特任教授)
- ② 研究項目
 - ・チトクロム酸化酵素(複合体 IV)の水素原子を同定できる X 線結晶構造解析とナノ秒時分割結晶構造解析によって、酸素還元とプロトンポンプ機構を原子の挙動として解明する。
 - ・NADH-ユビキノン還元酵素(複合体I)の2次元及び3次元構造解析
 - ・ミトコンドリア呼吸系構成蛋白質間の相互作用の解析

(2) 理研グループ

- ① 主たる共同研究者: 上野 剛 (理化学研究所放射光科学総合研究センター、専任技師)
- ② 研究項目
 - ・X 線自由電子レーザーを用いて、チトクロム酸化酵素のナノ秒時分割構造解析を行うための技術開発及び回折実験を行う。

§ 2. 研究実施の概要

I. チトクロム c 酸化酵素(CcO)の精密構造解析によるプロトンポンプ機構の解明

CcO は酸素を水に還元することによって、プロトンを能動輸送する。我々は CcO の構造に基づいてH-パスと呼ばれるプロトン輸送経路を提案している。このH-パスのマトリックス側(N側)は水チャンネルと呼び、その膜間腔側(P側)は水素結合ネットワークと呼ぶ。

この度、それぞれ酸化型 1.5 Å、還元型 1.6 Å と高い分解能の構造解析を行った。その結果、ヘリックス X の構造変化によって水チャンネルが開閉されること、ヘム a3 のシフトによってヘリックス X の構造変化が誘起されることが明らかになった。

図1は水チャンネルが開いている状態の構造で白矢印はプロトン経路の一部を示している。ヘム a3 がヘム a 側にシフトするとヘム a3 のビニル基(赤矢印)と Leu381 の側鎖が近接してヘリックス X の構造変化が起こり、プロトン経路の白矢印で示す部分が狭くなり閉じられる。

ヘム a3 のプロピオン酸と CuA の間には Mg と20カ所以上の水や親水性アミノ酸残基からなる構造がある。この領域を Mg 含有水クラスターと呼び、水チャンネルが開いた時に4プロトンがこの領域に一時的に蓄えられると考えている。CuA からヘム a3 にヘム a を介して電子が移動するたびにこのプールから水素結合ネットワークを通して P 側にプロトンが輸送される。(The Mg²⁺-containing water cluster of mammalian cytochrome c oxidase collects four pumping proton equivalents in each catalytic cycle. N. Yano et al., J. Biol. Chem. (2016) 291, 23882-23894.)

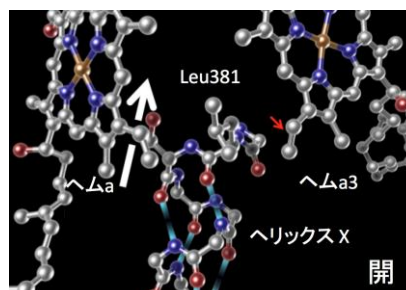


図 1. 水チャンネルの開閉を制御するヘリックス X の構造

II. チトクロム c-CcO 複合体で見つかった新しい蛋白質間相互作用様式

CcOとチトクロムcの複合体の結晶構造解析を2.0 Å分解能で行った。チトクロムcはCcOの膜外領域にある負に帯電した窪んだ表面に結合している。両者の結合はチトクロムc側の3つのLysと1つのGlnがチトクロム酸化酵素の側鎖と水素結合あるいは塩橋を作っている。互いに相互作用している領域の近くには、チトクロムcでは電子を供与するヘムc、CcO側では電子を受け取るCuAがあり、電子伝達経路を決定することができた。

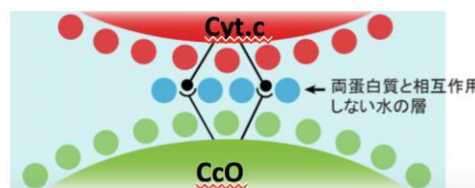


図 2. 表面水を保持した複合体

両者は親水性残基の側鎖間で特異的に相手を認識しているが、疎水性残基間での相互作用はない。図2は複合体構造を模式的に示している。両者は主鎖構造を変えることなく、表面の水を保持した状態で会合する。この相互作用様式を「特異的で柔らかい相互作用様式」と呼ぶことにした。この会合によって迅速な電子伝達が繰り返されるのであろう。(Complex structure of cytochrome c–cytochrome c oxidase reveals a novel protein–protein interaction mode. S. Shimada et al. EMBO J. (2017) 36, 291-300.)