

タンパク質分子間電子伝達機構の構造基盤

野尻正樹

私たちが身体を維持し、それを働かせるにはエネルギーが必要である。生体エネルギー変換に欠かせない“タンパク質分子間電子移動反応”はまだ未解明な部分が数多く存在するプロセスである。本研究では銅含有亜硝酸還元酵素とその酸化還元パートナーのシトクロム *c* を用いた、両タンパク質の一過性複合体構造を X 線結晶構造解析法から明らかにすることに成功した。立体構造情報と電子移動理論をベースに、これまでになく詳細なタンパク質分子間電子移動反応に関する構造的・機構的洞察を行い、最も可能性のある電子移動反応機構に関する知見を深めた。さらに、分子間認識機構の解明に向けた新たな構造解析結果も併せてここに紹介する。

1. はじめに

私たちが身体を維持し、それを働かせるにはエネルギーが必要である。地球上の生物は数十億年もの進化の歴史を経て、生命維持に必要なエネルギーを効率よく獲得する方法を作り上げている。植物や光合成細菌などは太陽からの光エネルギーを取り込み、一方、動物は食物を摂取し消費することで、最終的に化学エネルギーを蓄積している。生体中で起こるこれらエネルギー変換機構のことを総称して“生体エネルギー変換”といい¹⁾、1961年に Peter D. Mitchell 教授 (1978年にノーベル化学賞受賞)により提案された「ATP合成の駆動力は生体膜を介したプロトンの濃度勾配による」“化学浸透圧(仮)説”²⁾がその根幹にある。生体中でプロトン濃度勾配を作り出す機構の本質は、様々な物質・分子間を経由しつつ、一方向に伝達される電子の移動に他ならない。

一般に物質内・物質間の電子の流れをコントロールすることは現代の科学技術でも難しく、「生物(特にタンパク質)」がこの化学反応をどのようにして効率よく成し遂げて

いるのか?」を明らかにすることは、50年以上前から現在もお継続される多くの科学者達の主要な研究題材の一つとされている。本稿では、まず、はじめに生体内の電子移動反応に関わる基礎的事項とタンパク質分子間電子移動反応について紹介し、その後、最近、筆者らのグループによって行われたタンパク質分子間電子移動反応に関する構造的ならびに機構的洞察について報告したい。

2. 生体内電子移動機構の基礎的概念

「電子移動(伝達)反応」の研究はその歴史も古く、化学、物理学そして生物学の3分野にまたがる学際科学的な研究対象の一つである。分子内の原子は電子を介して結合しているので、その電子が移動する反応は結合の組み替えを伴う化学反応の中で最も基本的な反応である。そのため他の化学反応に比べて理論的解析も進んでおり、なかでも1992年にノーベル化学賞を受賞した Rudolf A. Marcus 教授によって提案された“マーカス理論”³⁾は今日の電子移動反応全般を理解する上での基礎的理論として位置付けられている。マーカス理論の概略は、電子の動きは原子の動きよりもはるかに速いというフランク-コンドン原理に基づき、溶媒も含めた核配置のゆらぎを考慮した再配向エネルギー λ 、反応のドライビングフォースである(反応前後の)自由エネルギー変化 ΔG° 、そして電子供与体(donor: D)と受容体(acceptor: A)の距離と配置に依存する軌道間相互作用(電子トンネリング行列要素) H_{DA} 等の各種パラメーターにより電子移動反応速度が定義されるというも

大阪大学大学院理学研究科化学専攻 (〒560-0043 大阪府豊中市待兼山町 1-1)

Structural basis for inter-protein electron transfer
Masaki Nojiri (Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University, 1-1 Machikaneyama, Toyonaka, Osaka 560-0043, Japan)

本総説は 2011 年度奨励賞を受賞した。

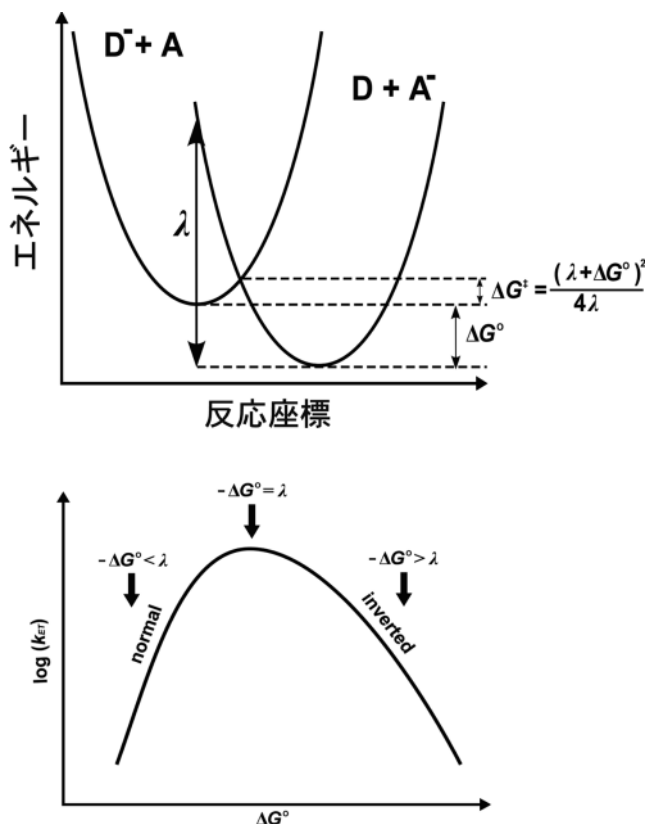


図1 (上) 電子移動反応のエネルギーダイアグラム,
(下) 電子移動反応のエネルギーギャップ則

のである。各種パラメーター間には相互に密接な関係があり、特に興味深いのは λ の大きさに対する ΔG° の値に依存して電子移動速度が大きく放物線状の曲線を描き($\lambda = -\Delta G^\circ$ のときに最大値となる)、また λ と ΔG° のバランスによって反応全体の活性化自由エネルギー(ΔG^\ddagger)が定義されることにある(図1)。

生体内における電子移動反応では一般的に小さな ΔG° で10 Å(オングストローム)をも超える長距離に渡って電子が移動する。その現象だけを見ると理論上は極めて効率の悪い遅い反応速度になりそうであるが、実際の生体内ではとても効率よく(一方向に)迅速に電子移動反応が起こっている。それゆえに、生物(タンパク質)はどのようにして上述の物理化学的パラメーターをうまくコントロールして、迅速かつ一方向性の電子移動反応を実現しているのかを明らかにすることが当面の解決すべき課題となる。

3. タンパク質分子間電子移動反応

上述の課題に対するアプローチとして、酸化還元中心間(ドナー・アクセプター間)の距離と位置(とその間の原子環境)を知るために、まずはその対象とするタンパク質の立体構造を決定する必要がある。今日の目覚ましい科学

技術の進歩によって、生体エネルギー変換に関わる主要構成タンパク質の光合成反応中心、*b_c*複合体、*b_f*複合体、そしてシトクロム*c*酸化酵素などの巨大膜タンパク質の立体構造が次々と明らかにされ、それら分子内における電子移動メカニズムの解析が構造生物学ならびに理論計算科学の分野を中心に飛躍的に進んでいる⁴⁻⁸⁾。

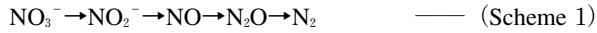
一方、生体内には上述の巨大膜タンパク質分子内の電子移動反応とは区別して、電子を運ぶキャリアータンパク質を介した「タンパク質分子間電子伝達(移動)反応」がある。一般にそれらキャリアータンパク質は“電子伝達タンパク質”と呼ばれ、呼吸鎖ではシトクロム*c*、一方、光合成ではブルー銅タンパク質のプラストシアニンや鉄硫黄タンパク質のフェレドキシン等がそれにあたる。それら電子伝達タンパク質は共通して複数の酸化還元パートナータンパク質と過渡的に相互作用し電子の授受を行う。例えば、Aという分子から電子を受け取ったあと、Bという分子に電子を渡す。すなわち、AとBの両分子がともにパートナーであり、実際の生体中ではめまぐるしく両パートナー分子との相互作用を繰り返している。これら分子間で起こる電子移動反応もまた、プロトン濃度勾配形成のための重要なプロセスの一つであり、これまで多くの科学者達が研究に携わってきている。しかしながら、分子間電子移動反応における上述のような反応機構の本質(λ や ΔG°)に関する報告や解析はさほど進んでいない。なぜなら、酸化還元パートナー分子同士によって形成される過渡的な複合体が非常に弱く不安定なため、その立体構造をもとにした解析が困難であること(複合体状態で構造解析に成功した例が非常に少ない)、そして、その反応機構全体として、電子移動が起こる前に複雑な分子間相互作用ステップを経由するため実測した電子移動速度定数等の解釈が難しくなることがその原因として挙げられる。

そこで筆者は、シトクロム*c*酸化酵素等の好気呼吸系に比べ比較的研究が遅れている嫌気呼吸系の異化的硝酸還元系(脱窒)に焦点をあて、その系内で起こる電子伝達タンパク質(シトクロム*c*)と銅含有亜硝酸還元酵素の分子間電子移動反応について、二つのタンパク質が互いに相互作用している様子をX線結晶構造解析法によって明らかにし、その立体構造をもとにタンパク質分子間電子移動反応に関する簡単な洞察を行ったのでここに紹介する。

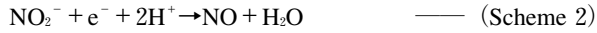
4. 脱窒と銅含有亜硝酸還元酵素

生物にとって必須元素の一つである窒素は大気中に存在する分子状窒素をはじめ、硝酸塩、アンモニウム塩等のような低分子化合物から生体中のタンパク質や核酸等に至るまで、様々な形で自然界に存在し形を変えながら循環している。土壌や海水中の微生物において、硝酸、亜硝酸(塩)等の窒素酸化物を分子状窒素にまで段階的に還元してエネ

ルギーを得るプロセスを「脱窒」と呼ぶ（嫌気呼吸系の一つであり硝酸塩呼吸または異化的硝酸還元ともいう、Scheme 1)⁹⁾。



脱窒の各段階には個々の酵素が働いており、そのうち、亜硝酸イオンを一酸化窒素へ1電子還元する反応を触媒するのが、亜硝酸還元酵素 (Nitrite Reductase: NiR) である¹⁰⁾。NiR による亜硝酸イオンの1電子還元反応は Scheme 2 のような反応式で表すことができる。



NiR は一連の脱窒プロセスにおいて気体生成物 (NO, N₂O, N₂) を生じる最初のステップを触媒するため、脱窒の進行を司るキーエンザイムとして広く認識されている。本酵素は活性中心に金属を持つ可溶性の金属タンパク質で、保有する金属ならびに補欠分子により大きく2種類に分類される。一つはヘムを持つタイプ (*cd*₁NiR) であり、もう一つは銅を持つ銅含有 NiR (CuNiR) である。興味深いことに、この両者は排他的であり同一菌体内で共存することはない。

これまでに結晶構造が報告されている6種類の CuNiR^{10~15)} は、*Hyphomicrobium* 種の六量体 CuNiR¹⁴⁾ を除きすべて、2種類の銅イオン (タイプ1銅とタイプ2銅) を1個ずつ結合したサブユニット三つからなるホモ三量体構造 (分子量11万で銅を合計6個含む) をとっている (図2)。分子量約3.7万のサブユニット単体は、約8本のβ鎖の束からなるβ-バレル構造を二つ持った構造をしている。また、銅部位においてはいずれもゆがんだ四面体四配位のタイプ1銅 (T1Cu) とタイプ2銅 (T2Cu) が、-ヒスチジン残基 (His129)-システイン残基 (Cys130)-の2アミノ酸残基によって架橋され、約12.5 Å離れて位置して

いる。さらに、T2Cuの周りには [T2Cu 配位水分子-アスパラギン酸残基 (Asp92)-水分子-ヒスチジン残基 (His249)] の水素結合ネットワークがあり、基質 (NO₂⁻) へのプロトン供給を担っている。

本酵素はまず、T1Cuで電子供与 (伝達) タンパク質から電子を受け取り、His-Cys 架橋構造を経由したタンパク質分子内電子移動により T2Cu に電子を送る。次に還元された T2Cu で NO₂⁻ が NO に還元されて触媒反応が進行する。CuNiR へ電子を供給する電子伝達タンパク質 (酸化還元パートナー) は、ブルー銅タンパク質のシュードアズリン (PAz) とアズリン (Az), そしてヘムタンパク質のシトクロム *c* (Cyt_c) があげられ、本稿で取り上げる脱窒菌 *Achromobacter xylosoxidans* においては、Cyt_c-551 が生理的電子供与体であることがわかっている¹⁶⁾。

CuNiR の T1Cu の酸化還元電位と酸化還元に伴う再配向エネルギー λ はそれぞれ +0.23~0.3 V (vs. 標準水素電極) と ~0.7 eV 程度と見積もられている¹⁷⁾。一方、酸化還元パートナーの Cyt_c-551 は、*c* 型ヘムを補欠分子として一つ持つ分子量約9000のタンパク質である。その酸化還元電位と λ は +0.24 V (vs. 標準水素電極) と 0.5~1.5 eV 程度と見積もられている¹⁸⁾。単純にそれらの値から推測される CuNiR と Cyt_c-551 分子間電子移動反応の ΔG° は +0.01~-0.05 V 程度の極めて小さい値となり、かつ、予想される λ が 0.6~1.1 eV 程度であるため推測 ΔG° 値に対し極めてアンバランスな理論的にもさぞかし非効率的な電子移動反応になると予想される (図1参照)。しかしながら、当研究室でストップフロー法により実測した両分子間電子移動反応における二次速度定数は生体反応としては十分に効率的な ~10⁶ M⁻¹s⁻¹ オーダーであり、ましてや“戻り (逆方向)”の電子移動反応なども観測されず、

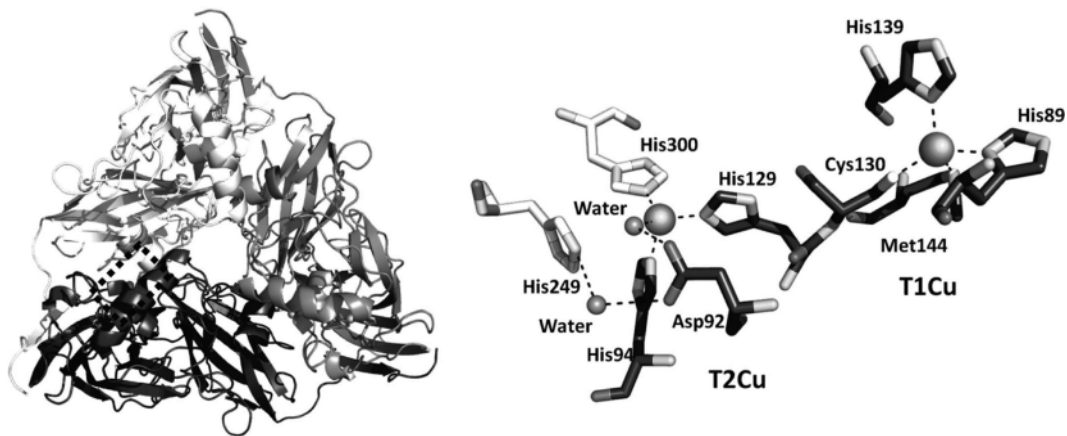


図2 一般的な CuNiR の三量体構造 (左) と銅部位 (右)

サブユニットごとにグレー濃淡で色分けしたりボンで描画している。点線四角は一つのサブユニットの銅部位の場所を意味している。タイプ1銅 (T1Cu) は二つの His, と Cys, Met で結合し、タイプ2銅 (T2Cu) は三つの His と水分子が配位している。T2Cu 近傍に Asp92 と His249 そして水分子を介した水素結合ネットワークが存在する。

ほぼ100%順方向（ヘムからT1Cuへ）のみの電子移動活性を示す。これはいったいなぜだろうか？ そんな漠然とした疑問が筆者の好奇心を駆り立て、今回のCuNiRとCytc-551の電子伝達タンパク質複合体の立体構造解析を計画するに至った。

一般に、電子伝達パートナー分子同士によって形成される過渡的な複合体は弱く短寿命な一過性のものであり、その不安定さからその立体構造解析に成功した例は非常に少ない。しかしながら、筆者らは上述の課題を克服するため、より精度の高い構造情報を得る必要性からX線結晶構造解析法をその解析手段に選び、二つのタンパク質の複合体状態での単結晶化を丹念にあきらめずに試み続けた。幸いにも、ポリエチレングリコール（PEG）を中心に結晶化条件の探索を進めたところ、19%（w/v）PEG3350を沈殿剤としたときに、薄紫色（ヘムの赤色とT1Cuの青色の混在した色）の棒状晶を得た。この結晶を用いてSPRING-8 BL44XU（大阪大学蛋白質研究所：生体超分子複合体構造解析ビームライン）においてX線回折強度データの収集を行い、その立体構造を1.7 Åで決定することに成功した¹⁹⁾。

5. CuNiRとCytc-551の複合体構造

結晶中のCuNiRとCytc-551はモル比1対1（CuNiRは三量体）で複合体を形成していた。複合体構造においてCytc-551のヘムとCuNiRのT1Cuは大変近い位置関係にあり〔ヘムのエッジ（CBC）炭素原子とT1Cuまでの距離が10.5 Å〕、計算から求められたこの立体配置での H_{DA} 値は 2.76×10^{-4} であった（図3）。これは量子力学的に電子移動反応が効率よく起こると考えるのに十分な距離と配置であると考えられる²⁰⁻²²⁾。両分子間の相互作用境界面では、Cytc-551およびCuNiR双方から合計21アミノ酸残基

が会合面に位置していたが、その面積は双方合計で約1000 Å²程度しかなかった。この面積値は分子全体の表面積の約5~15%に相当し、これまで明らかにされている他の複合体構造と比べて、この二つの分子間の相互作用が極めて弱く過渡的であることをよく現している²³⁾。境界面に存在する原子の半分以上は非極性であり、特にCytc-551の4残基（Val22, Val28, Ala61, およびPro63）とCuNiRの4残基（Ala86, Met87, Met135 およびTrp138）が双方の酸化還元中心近傍の疎水的な環境作りに大きく貢献していた。両分子単独の構造解析ではCytc-551のヘム近傍表面とCuNiRのT1Cu近傍表面にはそれぞれ水分子がまばらに点在しているが、それらの水分子は複合体を形成することで相互作用境界面の中心から完全に排除されていた。違う見方をすれば、互いの酸化還元中心間に水分子が入り込むほど隙間なく近づいて相互作用していることになる。水分子はタンパク質分子に比べ大きな誘電率を持つため、分子間会合に起因した境界面における水分子の排除は、その後続く電子移動反応機構の λ を大きく減少させる効果を十分に期待させるものである¹⁸⁾。

6. 複合体形成に伴うCuNiRの構造変化

今回決定した複合体結晶構造ではモル比1対1で両分子が相互作用していた。すなわち、CuNiRはホモ三量体構造なので、残りの二つのサブユニットはフリーのままである。そこで、Cytc-551が結合していないサブユニットと結合したサブユニットの構造を比較したところ、興味深い構造変化を確認することができた。両サブユニットの立体構造の重ね合わせ図からも明らかなように、Met87, Met135, Tyr197の側鎖構造に比較的大きな変化が見られた（図4）。特に複合体形成時にはMet135の側鎖構造は、Cytc-551からのVal残基の接近によりT1Cu配位子の一つ

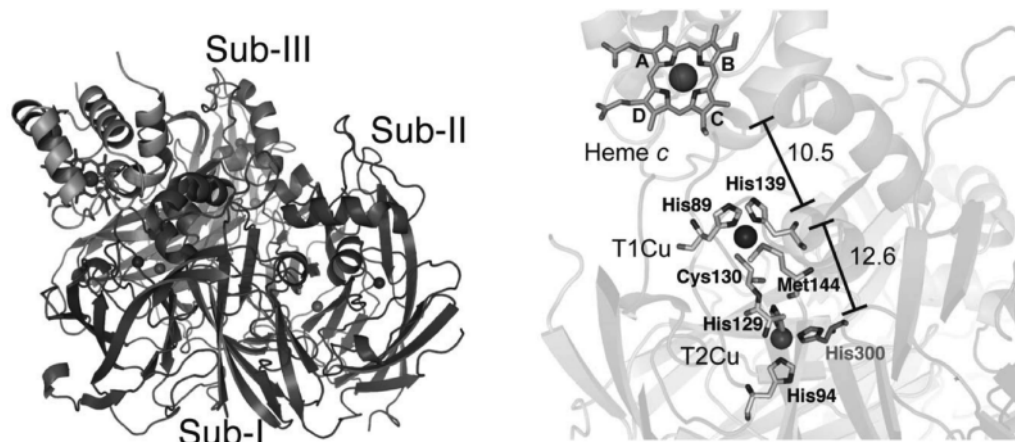


図3 CuNiRとCytc-551複合体の全体構造（左）と酸化還元中心の位置関係
CuNiR分子（ホモ三量体）の上に1分子のCytc-551（リボン描画）がのっている。Cytc-551のヘムとCuNiRのタイプ1銅部位（図内Heme cとT1Cu）が10.5 Åの距離まで近づいている。

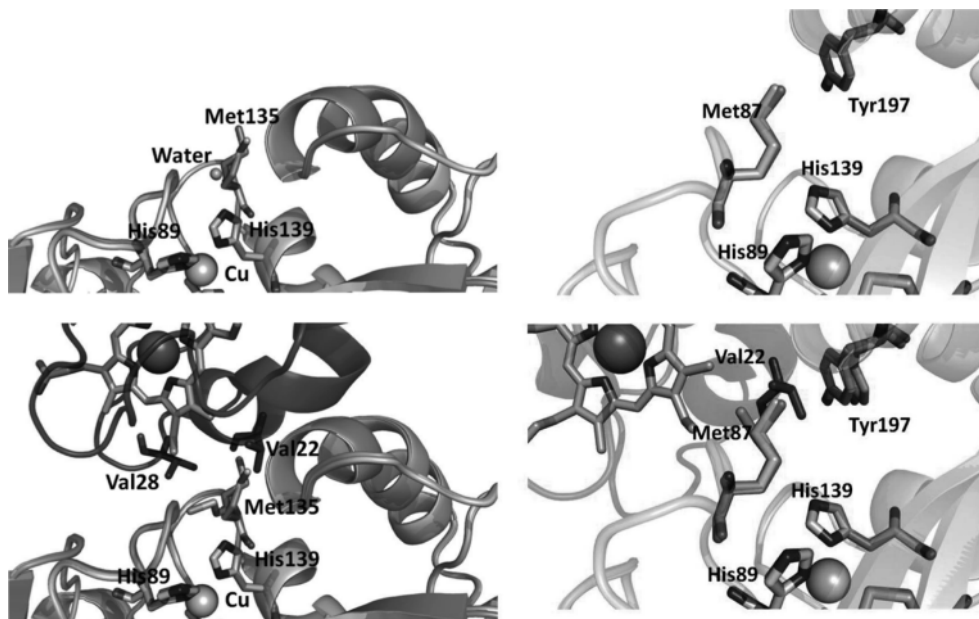


図4 複合体形成に伴う CuNiR の構造変化

(上段) Cytc-551 と相互作用していない CuNiR サブユニットの T1Cu 上部付近の構造。(下段) 上段の構造に Cytc-551 複合体構造を重ね合わせたもの。左図と右図は同じものを別の角度から見た図。複合体形成に伴い Met135 が His139 に覆いかぶさり、His139 に水素結合していた水分子は排除されている(図 左上, 左下)。Tyr197 は複合体では Cytc-551 に押され、Met87 はヘムに近づくように構造変化していた(図 右上, 右下)。

である His139 の上部に覆いかぶさるような構造をとる。一方、結合していないサブユニットでは Met135 は溶媒領域方向へ向いており、その結果、His139 の上部には水分子が一つ水素結合距離内 (2.8 Å) に存在していた。すなわち、Cytc-551 が結合するか否かで、T1Cu 配位子の His139 周りの原子環境が大きく変化していることになる。この His139 残基は T1Cu を含有するタンパク質特有の“溶媒露出 His 配位子”と呼ばれる残基で、その残基周辺の環境変化がドラスティックに T1Cu の酸化還元電位に影響を及ぼすことが知られている²⁴⁾。今回得られた複合体構造は、Cytc-551 が相互作用することにより T1Cu 配位 His 残基の環境が変化し、スムーズな分子間電子伝達が起こるように T1Cu の酸化還元電位を調節していることを強く示唆させるものだった。そして、その役割を担う残基の一つが Met135 残基である。その証拠の一つに Met135 を Ser に変異させると Cytc-551 から CuNiR への電子移動速度定数が約 10 分の 1 に低下する。これまで数多く CuNiR の変異体解析実験が報告されているが、この Met135 残基を変異させた実験は本研究が初めてであり、これまで完全に見落とされていた重要な残基の一つを同定できたことになる。

また、この Met 残基の構造変化は当研究室で予備的に行った還元型 CuNiR 単独の立体構造解析でも見られている。すなわち、Cytc-551 が結合することで CuNiR 側の立体構造 (特に T1Cu 部位周辺) がすでに還元型で安定な構

造へと変化しており、上述の水分子排除効果と同様に、電子移動反応が起こる前に CuNiR 分子側に電子を受け取れるような状態へと立体構造変化が誘起され、結果としてその後続く電子移動反応をよりスムーズに進行させる仕組みが十分に考えられる (活性化自由エネルギー障壁 ΔG^\ddagger を下げる効果が期待される)。そして、Cytc-551 と複合体を形成するか否かで T1Cu 配位構造のジオメトリーはほとんど変化していなかった。これは、T1Cu 含有タンパク質全てで言えることであるが、生体内でよりスムーズな電子移動反応を行うために酸化還元反応に伴って T1Cu 配位構造を大きく変化させたりはせずに、その代わりに T1Cu 周りの第 2、第 3 配位圏の構造 (原子環境) を微妙に変化させることで反応を制御する機構の方がエネルギー的にも有利であることから、CuNiR も含め、T1Cu 含有タンパク質において保存される重要な機構の一つと言えそうである²⁵⁾。

7. 複合体形成に伴う Cytc-551 の構造変化

一方、Cytc-551 における複合体形成に伴う構造変化について調べるために、さらに別の結晶化条件の探索を行い、最近、新しい CuNiR : Cytc-551 複合体結晶化条件を見つけることに成功した。さらに興味深いことに、結晶作製の際に両タンパク質濃度を変化させることで、同一結晶化条件下で Cytc-551 単独の結晶化にも成功した。上述と

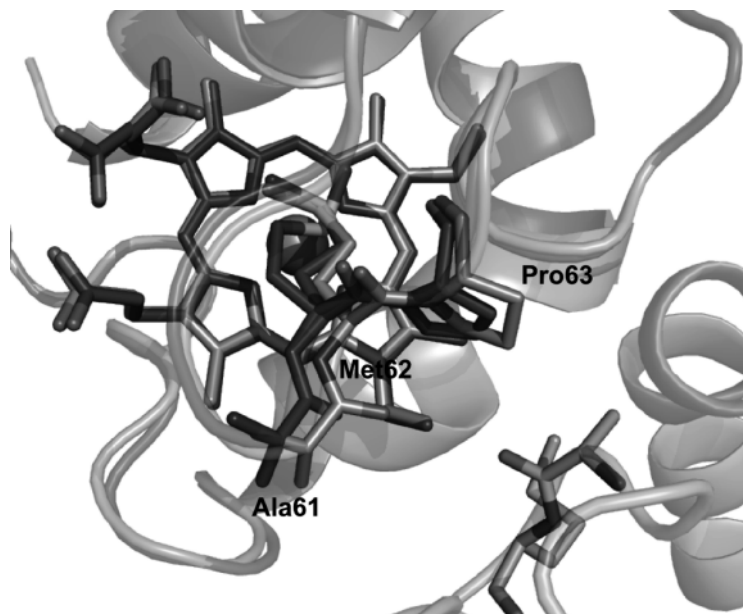


図5 複合体形成に伴う Cytc-551 の構造変化

複合体形成に伴い CuNiR の Ala83 が Cytc-551 の Ala61-Met62-Pro63 の主鎖を押す形をとる (濃色). 比較のためにフリーの Cytc-551 の構造を重ねている (薄色). 主鎖の位置のずれが結果として Met62 の側鎖構造に影響を及ぼしている.

同様に SPring-8 BL44XU において X 線回折強度データの収集を行い, その立体構造を複合体 1.6 Å, Cytc-551 単独を 1.8 Å の分解能で決定することに成功している (Nojiri ら, 投稿準備中). 両結晶構造における Cytc-551 の立体構造を詳細に見比べた結果, 複合体形成に伴うヘム鉄原子配位子の Met 残基に明確な構造変化が観測された (図 5). CuNiR 側の Ala83 の接近により, Cytc-551 の Ala61-Met62 (ヘム配位子)-Pro63 の主鎖が押され, さらに Met62 残基側鎖の Ce 原子とプロピオン酸が立体障害を起こす結果, ヘム鉄原子に配位したまま Met 側鎖の構造が変化する. 一般に, Cytc の配位 Met 側鎖は周りの原子環境によってバラエティーに富む構造を持ち, それに伴い酸化還元電位にも影響を及ぼすことが知られている²⁶⁾. それゆえに, 上述の TlCu 同様, ヘム側でも分子間会合に伴い ΔG° をより負に大きくするような順方向の電子移動を促進する機構がその Met 側鎖の立体構造変化に起因して起こり得そうであり, 今後のさらなる解析に期待がもてる. また, 最近のバイオインフォマティクス研究から, Cytc が酸化還元パートナー分子と相互作用する際に使う分子表面領域に明確な二つのパターンがあることが報告されている²⁷⁾. 今回の CuNiR と Cytc-551 の相互作用もそのうちの一つに含まれ, もしかすると複合体形成に伴う Met 側鎖の構造変化は他の Cytc を介した電子伝達複合体でも共通して見られる機構なのかもしれない.

8. パートナー分子認識機構における擬特異性

タンパク質分子間電子移動反応の場合, 電子移動反応が起こる前にパートナー分子同士による複雑な相互作用ステップを経ることは先に述べた. 一般に, 電子移動反応だけに限らず, タンパク質-タンパク質の分子間相互作用は, 地球上の生き物の全てにおいて見られるプロセスであり, その強さ, 特異性, 結合/解離バランスがその分子環境に応じて巧みにコントロールされた高次の生体分子相互作用ネットワークシステムとして捉えることができる. それゆえ, 生体内でこういった機構でタンパク質分子が認識し合うのかについては, 様々な分野でさかんに解析されているホットな研究題材の一つである.

CuNiR と Cytc-551 の場合, 互いに限られた 1000 Å² 程度の狭い領域で認識し合うことはすでに述べたが, その立体構造を眺めただけでは, どの部分が分子認識の本質的要素となるのか理解しにくい. そこで, 分子間会合によって構造変化が大きかった Met 残基に着目し, あえてバルキーな Leu 残基へと変異させ複合体の結晶構造解析を行った. すると, 驚くべきことに Cytc-551 分子が CuNiR との相互作用境界面を中心に約 90 度回転した状態で安定な複合体を形成していた (図 6). この立体構造解析結果は次の二つの重要なことを我々に教えてくれる.

1. Met 残基は Cytc-551 の配向を決める最も重要な残基

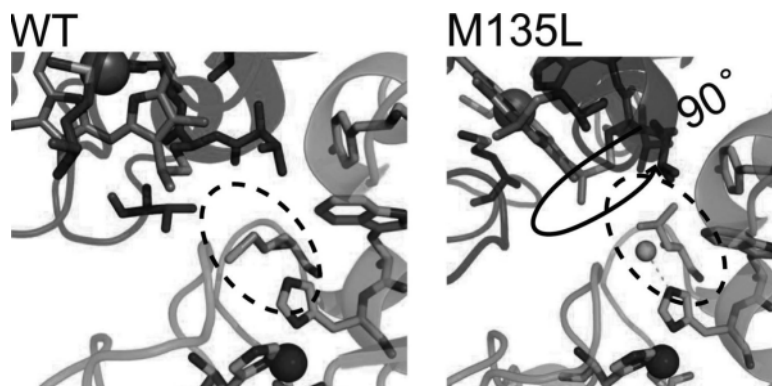


図6 野生型複合体（左）と M135L 変異体複合体（右）
M135L 変異体では Cytc-551 の配向が約 90 度回転しているのがわかる。

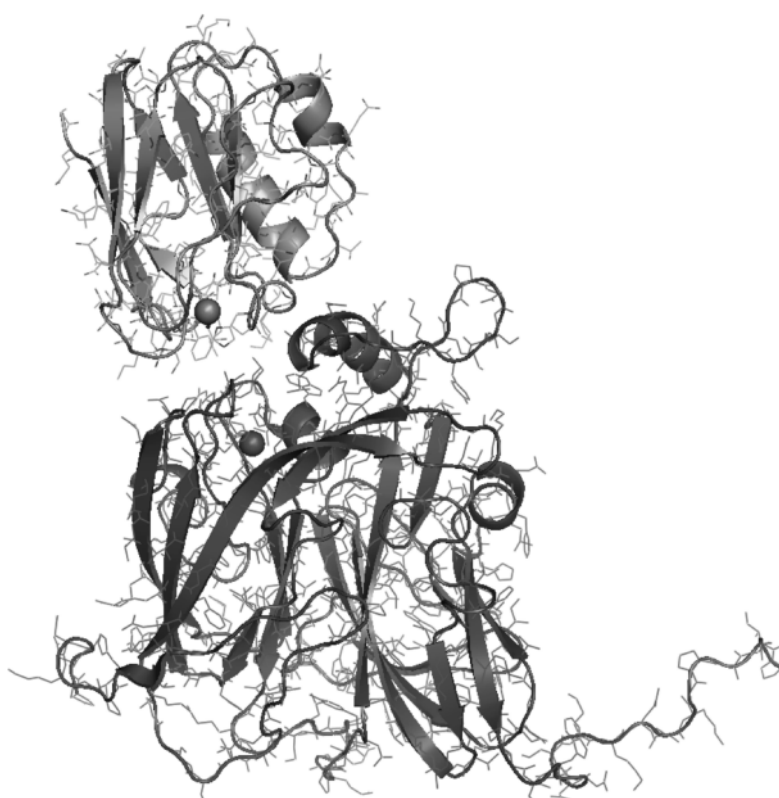


図7 CuNiR（下）と PAz（上）の複合体結晶構造
PAz 分子が Cytc-551 の場合とほぼ同一箇所相互作用している。

である。

2. 両分子間認識では相互作用中心面の疎水性領域と周りの極性領域の分布と平面さが重要であり、その他の細かい凸凹した表面構造は寄与していない。

さらに、このこと（特に2）を確かめるために、酸化還元部位近傍に“疎水性領域と周りの極性領域の分布と平面さ”を持つことで知られるブルー銅タンパク質 PAz を用いて複合体の結晶構造解析を行ったところ、予想通り CuNiR 表面の同一箇所において安定な複合体構造を形成

した（図7）。

分子間電子移動反応におけるパートナー認識機構では“特異性”と“いいかげんさ”を併せ持つこと（擬特異性）がよく言われているが、そのことを精度の高い結晶構造解析で実証したのはこれが初めての例である。現在、上述の野生型の場合も含め、合計3種類の複合体ペアについてさらなる解析をすすめているところである。

9. おわりに

今回、CuNiR と Cytc-551 分子間で起こる電子移動反応

を例に、タンパク質分子間電子移動反応の研究意義と過渡的複合体結晶構造を用いた反応機構への構造的洞察の概略を述べた。生体中で拡散的に会合／解離を繰り返す分子同士が小さな ΔG° で長距離電子移動させるために、過渡的な分子間会合時にそれぞれの酸化還元中心近傍の立体構造をわずかに変化させることで反応に関わるパラメーターをコントロールする機構の存在が強く示唆された。そして精度の高い複合体構造解析から、その迅速かつ一方向性の電子移動を可能にするメカニズムのより信憑性の高い構造的基盤を発見できたと考えている。

近年の目覚ましい科学技術の進歩により一昔前までは不可能であった研究も可能になりつつある現在は、先人達が避けてきた複雑な系に対しても新たな解析技術でもって果敢に挑戦する姿勢が必要とされる。タンパク質分子間電子移動反応もその一つであり、分子間相互作用が一過性であるためにこれまで未解析となっていた機構に対し、解決の糸口を与える有効な手段の一つに、過渡的電子伝達タンパク質複合体の高分解能立体構造解析も今後、含まれてくることを期待して本稿の終わりとした。

謝辞

本研究のX線回折実験は大型放射光施設 (SPring-8) の大阪大学蛋白質研究所専用ビームライン・生体超分子構造解析ビームライン BL44XU を利用して行われました。関係諸先生方に深く感謝いたします。また、これまでにご指導・ご鞭撻くださいました多くの先生方、そして筆者とともにいくつもの苦難を乗り越えてついて来てくれた学生達にこの場を借りて厚くお礼申し上げます。

また、本研究は科学研究費補助金と住友財団「基礎科学研究助成」の援助のもとに行われました。

文 献

- 1) 垣谷俊昭, 三室 守 (2000) 電子と生命, 共立出版.
- 2) Mitchell, P. (1961) *Nature*, **191**, 144-148.
- 3) Marcus, R.A. & Sutin, N. (1985) *Biochim. Biophys. Acta*, **811**, 265-322.
- 4) Deisenhofer, J., Epp, O., Miki, K., Huber, R., & Michel, H. (1985) *Nature*, **318**, 618-624.
- 5) Xia, D., Yu, C.-A., Kim, H., Xia, J.-Z., Kachurin, A.M., Zhang, L., Yu, L., & Deisenhofer, J. (1997) *Science*, **277**, 60-66.
- 6) Kurisu, G., Zhang, H., Smith, J.L., & Cramer, W.A. (2003) *Science*, **302**, 1009-1014.
- 7) Iwata, S., Ostermeier, C., Ludwig, B., & Michel, H. (1995) *Nature*, **376**, 660-669.
- 8) Tsukihara, T., Aoyama, H., Yamashita, E., Tomizaki, T., Yamaguchi, H., Shinzawa-Itoh, K., Nakashima, R., Yaono, R., & Yoshikawa, S. (1995) *Science*, **269**, 1069-1074.
- 9) Zumft, W.G. (1997) *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, **61**, 533-616.
- 10) Godden, J.W., Turley, S., Teller, D.C., Adman, E.T., Liu, M. Y., Payne, W.J., & LeGall, J. (1991) *Science*, **253**, 438-442.
- 11) Dodd, F.E., Beeumen, J.V., Eady, R.R., & Hasnain, S.S. (1998) *J. Mol. Biol.*, **282**, 369-382.
- 12) Murphy, M.E.P., Turley, S., Kukimoto, M., Nishiyama, M., Horinouchi, S., Sasaki, H., Tanokura, M., & Adman, E.T. (1995) *Biochemistry*, **34**, 12107-12117.
- 13) Jacobson, F., Guo, H., Olesen, K., Okvist, M., Neutze, R., & Sjolín, L. (2005) *Acta Crystallogr.*, **D61**, 1190-1198.
- 14) Nojiri, M., Xie, Y., Inoue, T., Yamamoto, T., Matsumura, H., Kataoka, K., Deligeer, Yamaguchi, K., Kai, Y., & Suzuki, S. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 4315-4320.
- 15) Boulanger, M.J. & Murphy, M.E.P. (2002) *J. Mol. Biol.*, **315**, 1111-1127.
- 16) Koteishi, H., Nojiri, M., Nakagami, T., Yamaguchi, K., & Suzuki, S. (2009) *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **82**, 1003-1005.
- 17) Wherland, S., Farver, O., & Pecht, I. (2005) *ChemPhysChem*, **6**, 805-812.
- 18) Sharp, K.A. (1998) *Biophys. J.*, **74**, 1241-1250.
- 19) Nojiri, M., Koteishi, H., Nakagami, T., Kobayashi, K., Inoue, T., Yamaguchi, K., & Suzuki, S. (2009) *Nature*, **462**, 117-120.
- 20) Moser, C.C., Keske, J.M., Warncke, K., Fraid, R.S., & Dutton, P.L. (1992) *Nature*, **355**, 796-802.
- 21) Page, C.C., Moser, C.C., Chen, X., & Dutton, P.L. (1999) *Nature*, **402**, 47-52.
- 22) Onuchic, J.N., Beratan, D.N., Winkler, J.R., & Gray, H.B. (1992) *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **21**, 349-377.
- 23) Janin, J., Bahadur, R.P., & Chakrabarti, P. (2008) *Q. Rev. Biophys.*, **41**, 133-180.
- 24) Canters, G.W., Kolczak, U., Armstrong, F., Jeuken, L.J., Camba, R., & Sola, M. (2000) *Faraday Discuss.*, **116**, 205-220.
- 25) Warren, J.J., Lancaster, K.M., Richards, J.H., & Gray, H.B. (2012) *J. Inorg. Biochem.*, **115**, 119-126.
- 26) Terui, N., Tachiiri, N., Matsu, H., Hasegawa, J., Uchiyama, S., Kobayashi, Y., Igarashi, Y., Sambongi, Y., & Yamamoto, Y. (2003) *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 13650-13651.
- 27) Bertini, I., Cavallaro, G., & Rosato, A. (2011) *Metallomics*, **3**, 354-362.