

教授にババを振ったタフガイ —高度好熱菌の *caa*₃ 型シトクロム酸化酵素の結晶構造解明—

本波 康由

その主はTewfik Soulimane博士（以下博士と表記）である。アイルランド・リメリック大学の講師であり研究リーダーでもある。彼は責任著者の一人として高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8由来 *caa*₃型シトクロム (cyt) 酸化酵素の結晶構造を解き、立体構造を明らかにした¹⁾。この酵素は呼吸鎖電子伝達系における末端酸化酵素 (TOx) としてエネルギー産生の一翼を担い、電子の最終受容体である O₂ 分子を還元する。反応には O₂ の他に還元型 cyt c₅₅₂ (後述) とプロトン (H⁺) を要し、その際に H⁺ が細胞質から細胞内膜を横切ってペリプラズムに放出される。この酵素は2個のヘム a と1個のヘム c を補欠分子族として有し、O₂ を還元する部位はヘム a₃ で表記され *caa*₃ 型と呼ばれる。なお、ヘム b を持ち *ba*₃ 型と呼ばれる TOx も存在する (後述)。この研究成果の重要性は所属大学のHPにおいて次のように紹介された—本酵素の構造・機能の理解により、リー症候群や略称メラス (ミトコンドリア脳筋症・乳酸アシドーシス・脳卒中様発作症候群)、そして後天性鉄芽球性貧血を始めとする、シトクロム c 酸化酵素の機能異常が原因となっている多くの重篤な遺伝子疾患に対する理解の助けとなる。この膜酵素複合体の H⁺ ポンプ活性は1電子当り1個を示すことから TOx としては本格派である。これを発見した米国グループは1980年代には *c₁caa₃* 型と呼んでいたが、その後現在の呼び名に変更した。本菌の TOx 系には *ba*₃ 型の酸化酵素も存在し、ペリプラズムに局在する可溶性の cyt c₅₅₂ を経由した電子の流れは2つに分岐する。*ba*₃ 型は H⁺ ポンプ活性と酸素 O₂ に対する親和性とがトレードオフにある。つまり、この菌が生育する温度は高く、溶存 O₂ 濃度は常温に比べて低いため、それを効果的に補足する必要があったのだろう。O₂ への高い親和性を獲得した結果、H⁺ ポンプ活性が犠牲となったようだ。この活性は *caa*₃ 型の半分、1電子当り0.5個と報告されている。今後は他の生物種の TOx との構造比較を通して、分子内の電子伝達や H⁺ ポンプ機能の詳細について大いに理解が進むことであろう。

さて、ババに話を移そう。生理機能の観点から、この *caa*₃ 型酵素において cyt c ドメインの役割、H⁺ 経路、電子の入口・出口、O₂ チャンネルなど多くの疑問がある。その1つが、そもそも電子供与体は何であるかだ²⁾。いや、むしろ疑問にした張本人は博士自身であると言っておくべきだ³⁾。従来、*caa*₃ 型に対する電子供与体は可溶性の cyt c₅₅₂ であるとされ、これを基質に用いて H⁺ ポンプ機能が2つの異なるグループによって実証されていた。*ba*₃ 型酵素はこの菌では *caa*₃ 型に遅れて発見されたのだが、1995年に彼はドイツ・アーヘン工科大学での研究活動の中で *ba*₃ 型の3次元結晶解析の予備結果を報告し

た⁴⁾。博士は *ba*₃ 型の研究を通して「*caa*₃ 型は cyt c のモジュールを分子内に保持しているから、可溶性の cyt c₅₅₂ は厳密には必要としないだろう」と考え、その後強力な支持者を獲得した。この好熱菌から cyt bc 複合体を分離し、特性を明らかにしたルドウィヒ教授の研究グループだ。教授は博士の考えを受入れて次の憶測により支援した—bc 複合体と *caa*₃ 型との supercomplex 形成⁵⁾。この好熱菌においてもそれを確信した教授は、博士の考えをさらに進めて各モジュール間による反応速度論実験を基に Electron transfer kinetics of soluble fragments indicate a direct interaction between complex III and the *caa*₃ oxidase in *Thermus thermophilus* の題名で発表した。この論文に博士の名はなかった。

博士の考えは、少なくとも彼の中では、すっかり後退してしまった。彼はこの好熱菌の亜硫酸酸化酵素系を発見し、その特性を明らかにする中で「cyt c₅₅₂ は *caa*₃ 型の基質である」と実証してしまったのだ⁶⁾。そして今回の解析において、「cyt c₅₅₂ の露出したヘム・エッジは極性がないアミノ酸残基で囲まれている。この環境がヘム・ヘム相互作用を補完する部位となり、cyt c₅₅₂ から *caa*₃ 型への電子伝達を促進するかも知れない」と述べている⁷⁾。話をまとめると、*caa*₃ 型の H⁺ ポンプ活性の *in vitro* 実証は1984年に発表されたのだが、その後 TOx 系は分岐していることが判明し、それを契機に1990年代後半に博士は従来の考えに異論を唱えた。しかしながら、その10年後には自分の見解を疑うようになり、それを放棄して従来の考え「cyt c₅₅₂ は *caa*₃ の基質である」に戻りつつある。

さて、問題は「cyt c₅₅₂ は基質である」を実証した後の書きっぷりである²⁾。「基質」を「電子供与体」に置き替え、自身の *in vitro* 実験結果の不一致に触れることなく、*in vivo* の土俵に議論を移した。生理学研究は時には実施が困難であり、上記の *in vitro* 実験結果は細胞内の実情を反映するかどうか疑問であると。まずは、生理学研究の困難性を述べる前に、*in vitro* での不一致を止揚することが先だと考えるのだが…。

- 1) Lyons, J. A. et al.: *Nature*, **487**, 514 (2012).
- 2) Noor, M. R. and Soulimane, T.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1817**, 638 (2012).
- 3) Soulimane, T. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **237**, 572 (1997).
- 4) Soulimane, T. et al.: *FEBS Lett.*, **368**, 132 (1995).
- 5) Mooser, D. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1757**, 1084 (2006).
- 6) Robin, S. et al.: *J. Bacteriol.*, **193**, 3988 (2011).