

## 嫌気的生命を支える金属クラスター利用型酵素群の進化的起源に迫る！ 「一酸化炭素代謝酵素 CODH と NH<sub>2</sub>OH 還元酵素 HCP の共通祖先酵素の構造」

### 概要

埼玉大学大学院理工学研究科の藤城貴史准教授の研究グループは、嫌気的な環境の生物が利用する金属クラスターを利用する酵素群である“HCP/CODH ファミリー”のうち、最も進化的に古い祖先型酵素「二量体型 HCP」の X 線結晶構造を、世界で初めて明らかとしました。

この結果から、太古の地球環境＝還元的(嫌気的)環境での初期生命進化のシナリオで重要な役割を果たしたとされる一酸化炭素(CO)代謝酵素「CO デヒドロゲナーゼ(CODH)」、及び、NH<sub>2</sub>OH などの酸化分子種の還元酵素「単量体型 HCP」が生じた分子進化の過程を議論することが可能となりました。

本成果は、総合科学分野の国際誌『*Nature Communications*』に、ロンドン時間 2023 年 9 月 14 日午前 10 時:日本時間 2023 年 9 月 14 日 午後 6 時に、オンライン公開されました。

(URL: <https://www.nature.com/articles/s41467-023-41289-4>)

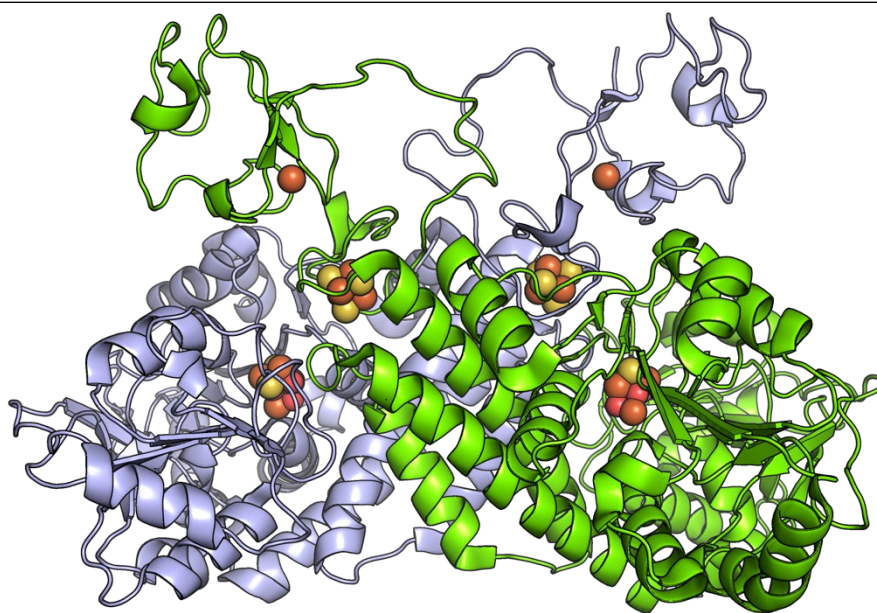


図1.二量体型 HCP の立体構造. 図中の球体は金属イオンまたは金属クラスター補因子を表す。

### 【ポイント】

- ・ [4Fe-2S-3O]クラスターを活性中心とする二量体型 HCP (Hybrid Cluster Protein) 酵素の立体構造を世界で初めて決定した(図1)。
- ・ 二量体型 HCP は、既報の単量体型 HCP と比べて、その活性部位周辺は共通の構造をとっていたが、二量体会合面となる箇所は大きく異なっていた。
- ・ 一方で、一酸化炭素代謝酵素 CODH (CO Dehydrogenase)と比べると、その二量体の全体構造はよく似ていたが、二量体会合面や活性部位の金属クラスター、そのクラスターを結合する一部のアミノ酸が異なっていた。
- ・ HCP と CODH の構造比較と、進化の関係を調べる分子系統解析から、HCP/CODH ファミリーの酵素群は、二量体型 HCP を祖先型とし、単量体型 HCP と CODH が、遺伝子重複や遺伝子融合、点変異などにより、それぞれ別の進化の道筋を経て生じた可能性が示された(図2)。

## 【研究の背景】

太古の地球環境を反映した嫌気的環境に生息する微生物は、ユニークな構造や反応性を示す金属補因子を持つ“金属酵素”を積極的に利用し、生命活動を行なっています。これらの金属酵素は、そのアミノ酸配列情報や立体構造を元に分類していくと、いくつかの酵素ファミリー（進化的に近い酵素の群）に分けることができます。

この分類のうち、HCP/CODH ファミリーは、Fe-S-X (X = Ni or O)型の金属クラスターを補因子とし、15-20%程度のアミノ酸配列相同性をもつ酵素群として知られています。HCP は、Fe-S-O 型クラスターを用いて NH<sub>2</sub>OH などの酸化ストレスを除去する酵素、CODH は Ni-Fe-S 型クラスターを用いて一酸化炭素(CO)と二酸化炭素(CO<sub>2</sub>)の相互変換を行う酵素です。両者はともに還元的生命において重要な役割を果たしていますが、これらがどのように進化的変遷を経て、現在の嫌気性微生物に見られるような形となったのかは、定かではありません。もし、この HCP/CODH ファミリーの進化的変遷を“分子構造の観点から”理解できれば、嫌気的初期生命の成立を支えた CO 代謝や還元的生命環境維持についての統合的な理解を深めることができると期待されます。

## 【研究結果】

本研究では、分類学上で3つの異なるクラス(= クラス I と II は単量体, III は二量体)の HCP のうち、これまで不明であったクラス III の「二量体型 HCP」の構造を X 線結晶構造解析により明らかとしました(図1)。さらに、二量体型 HCP と単量体型 HCP、CODH との構造比較や、構造に基づく分子系統解析から、HCP/CODH ファミリーの分子構造が、進化の過程でどのように変化していったかについて考察しました。

その結果、HCP の進化においては、二量体型 HCP の会合面の  $\alpha$ ヘリックスと類似の構造が、単量体型 HCP には2つ重複して見られ、遺伝子重複と遺伝子融合が、HCP の進化の過程で起こったことが示されました。一方、CODH の進化においては、CODH は HCP と類似の二量体構造を取りながらも、活性部位だけでなく会合面においても変異が見られたこと、その会合面の変異が活性部位よりも早く起きたことなどが示されました。以上から、二量体型 HCP が共通祖先となり、単量体型 HCP と CODH がそれぞれ独自に生じた諸過程(例: 遺伝子重複や補因子生合成系の獲得)の分子進化のシナリオ(図2)を新たに提案することができました。

## 【今後の展開】

今後は、遺伝子変異や合成生物学の手法を用いて、実際に HCP を人工的に CODH へと進化させることができるかどうかを検証していく予定です。また HCP の触媒機構には依然不明な点が多く、その化学的な理解に向けた実験も進めています。

## 【原論文情報】

掲載誌 Nature Communications

論文名 Class III hybrid cluster protein homodimeric architecture shows evolutionary relationship with Ni, Fe-carbon monoxide dehydrogenase

著者名 Takashi Fujishiro, Kyosei Takaoka

## 【研究支援】

科研費 学術変革(A) “CO world”公募研究、科研費 基盤研究(C)、東京化成化学振興財団 研究助成

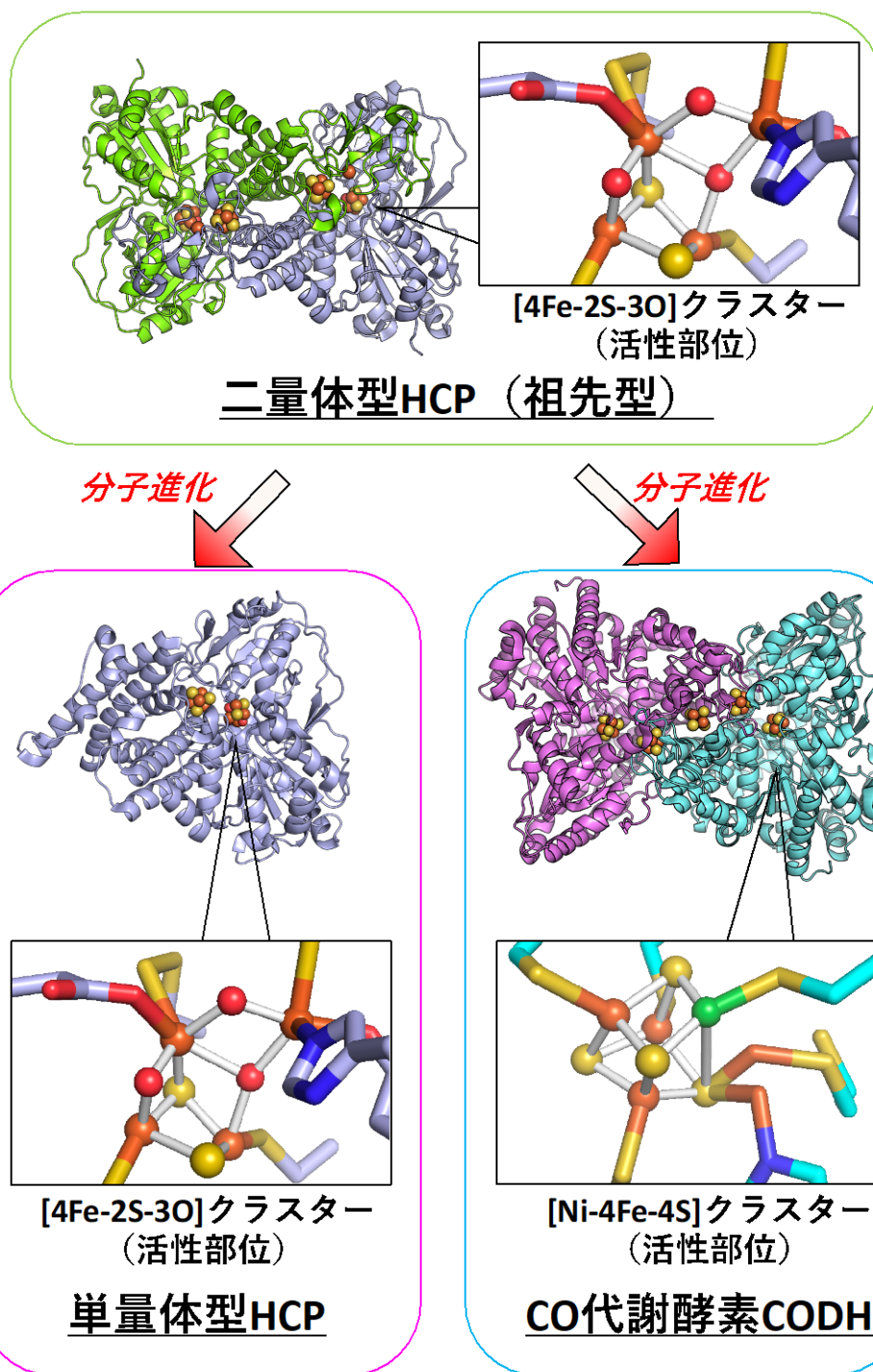


図2. 本研究結果のHCPとCODHの立体構造情報を元に提案した分子進化の道筋。  
活性部位のクラスターの構成成分であるFe、Ni、S、Oは、それぞれ茶、緑、黄、赤の球体で表す。

#### 【用語解説】

- (1) 金属クラスター: 金属や無機イオンが決まった数で、決まった化学構造をとって集合した分子群の総称。生物が補因子として利用する例としては、Fe-S クラスター（[4Fe-4S]、[3Fe-4S]、[2Fe-2S]クラスター）や、HCPの[4Fe-2S-3O]クラスター、CODHの[Ni-4Fe-4S]クラスターが知られる。
- (2) X線結晶構造解析: 分子・原子レベルで立体構造を調べる手法の1つであり、調べたいタンパク質の結晶を作成し、そのX線回折像から立体構造を計算により導き出すことができる。
- (3) 分子系統解析: 複数のタンパク質のアミノ酸配列などの相同性を比較して、それらがどの程度進化的に近いのか、などを調べる手法。本研究では、三次元構造の比較とその相同性も考慮に入れている。