紅藻 *Chondrus crispus* フラボドキシンの構造の精密化と特徴

(阪大理、Wales大*) ○福山恵一、松原央、L. J. Rogers*

フラボドキシンはフラビンモノヌクレオチド(FMN)を補欠分子族として含む低電位蛋白質で、細菌や藻類で酸化還元反応に関与している。ある細菌は鉄欠乏条件下でフェレドキシンにかわってフラボドキシンを誘導生産するが、紅藻 *Chondrus crispus* は常にフラボドキシンを産生し、フェレドキシンの産生はほとんどみとめられない。¹⁾ フェレドキシンとフラボドキシンとは互いに交換可能と考えられており、それぞれはフェレドキシン NADP⁺ レダクターゼと1:1の複合体を形成する。*C. crispus* のフラボドキシンは 173個のアミノ酸残基と1個の非共有的に結合した FMN からなっている。我々はこのフラボドキシンの立体構造を決定することによって、その機能や性質をより深く理解したいと考え、研究を進めてきた。昨年の年会で本フラボドキシン(酸化型)について、2.4 Å 分解能の解析結果を報告したが²⁾、今回より高分解能で精密化を行ったので、その結果について報告する。

この結晶は斜方晶系、空間群 P2₁2₁2₁に属し、格子定数は a = 63.6, b = 48.8, c = 56.8 Å で、非対称単位中に1分子含まれる。回折強度測定には4軸型自動回折計と Ni-フィルターで単色化した CuKα 線を用いた。Native 結晶の 2.4 - 1.85 Å 分解能領域の回折点を適当に重なりあった 6 shells に分割し、6 個の結晶を用いて測定した。どの結晶についても (hkl) と (hkī) の強度を測定し、等価な強度を平均した。なお、測定の前後で (hk0) の強度(それぞれ F_s, F_c)を測定し、F_c/F_s の (sin θ/λ)² に対するプロットをもとに、回折角に依存した X 線損傷の補正をした。このようにして得られたデータを Hamilton らの方法でスケールリングし、さらに既に測定済の ∞ - 2.35 Å のデータと一本化した。最終的に 1.85 Å 分解能で独立な 15,631 反射強度を得、そのうち F > 3σ を満たすのは 80 % であった。構造の精密化は (2F_o-F_c) omit-map によるモデル修正 (PMaker) および最小二乗法 (PROFFT) を交互に繰り返すことにより進めた。水分子の位置を (2F_o-F_c) map および (F_o-F_c) map から求めた。現在 80 個の水分子を含め、6.0-1.9 Å 分解能の 11,308 反射 (F > 3σ) に対し R = 0.216 である。分子モデルの結合距離に対する理想値からのずれの r.m.s. は 0.017 Å で、chiral volume に対するそれは 0.177 Å³ である。

分子構造の模式図を図 1 に示す。分子表面のごく一部の側鎖(主に Lys 残基)の末端原子を除いて、全てのアミノ酸残基の主鎖および側鎖のコンフォメーションを決定することができた。幾つかの水分子は蛋白分子内に存在し、ポリペプチド鎖間の橋渡しをしている。リン酸基と相互作用している蛋白部分は、β₁ と α₁ の間のループ部分で、一次構造が知られている全てのフラボドキシンで、T⁸ (又は S⁸)-X¹⁰-T¹⁰-G¹¹-X¹²-T¹³ という配列をとっている。本フラボドキシンでは、この部分に含まれる 3 つ全ての Thr 残基の γ 位の OH がリン酸基と水素結合している。また G¹¹ のコンフォメーションはグリシン残基にのみ許されたものである。本フラボドキシンでは、FMN の N(5) と Thr58 の Oγ とが近接しており、酸化型からセミキノン型に変化するに伴い、この残基の近傍の構造変化が予想される。

文献: (1) L. J. Rogers, In The Cyanobacteria (P. Fay and C. Van Baalen eds.), 35-67 (1987) Elsevier. (2) 福山ら、日本結晶学会年会要旨集, 0A-5 (1989).

図1. *C. crispus* フラボドキシンの構造。