

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	水から水素発生するラン藻モデル細胞創成に必要な光合成レドックス代謝ネットワークの完全理解
研究機関・部局・職名	大阪大学・蛋白質研究所・教授
氏名	栗栖 源嗣

【研究目的】

世界的エネルギー需要の増加にともない、再生可能なエネルギー源の探索が非常に重要な課題になっている。そうしたなか、理想的な次世代エネルギー源として注目されているのが、大気汚染物質を排出しない水素ガスである。しかし、低コストで環境負荷を抑えた水素ガス生産方法は未だ確立されていない。生物機能を応用した環境にやさしい水素生産の方法として、ヒドロゲナーゼと呼ばれる酵素が触媒する水素の酸化還元反応 ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2$) の利用が挙げられる。種々あるヒドロゲナーゼの中で、緑藻が持つ[FeFe]型ヒドロゲナーゼは、非常に活性が高く、水素の回収効率が非常に高い。さらに好ましいことに、緑藻が持つ[FeFe]型ヒドロゲナーゼは光合成電子伝達蛋白質であるフェレドキシン(Fd)を電子供与体としており、光合成エネルギー変換反応を直接利用して水素生産を行うことが可能である。こうした研究背景を基に、好熱性ラン藻を用いた *in vivo* での光駆動型水素発生を目指して様々なアプローチが試みられてきた。しかしながら、現在までのところ継続的かつ高収量での *in vivo* 水素発生には程遠い状況にある。

原因として大きく次の2つの理由が考えられる。まず、緑藻型[FeFe]ヒドロゲナーゼが持つ金属クラスター(H-クラスター)の特殊構造と不安定性が挙げられる。緑藻型[FeFe]ヒドロゲナーゼは高活性であるが酵素自身が不安定であるため、活性型の立体構造が解明されていない。すなわち、決定的に構造情報が不足している状況にある。次に、細胞内の還元力がヒドロゲナーゼに分配される効率の悪さがある。光合成生物は多くのレドックス代謝反応を光合成のエネルギー変換反応に依存している。光合成電子伝達の末端で働く電子キャリア蛋白質のFdが、無機酸化物の同化反応、ヘムや脂肪酸の代謝反応、クロロフィルの生合成反応など非常に幅広い代謝酵素に過不足無く還元力を供給し、葉緑体内の生命秩序維持に寄与する仕組みとなっている。しかし一方で、Fdが過剰に発現しているわけではなく、葉緑体における還元力分配の仕組みを分子レベルで解明することが高効率の水素発生には必須なのである。

本研究では、長く光合成レドックス代謝ネットワークの構造研究を進めてきた立場から、「水から水素を発生するラン藻モデル細胞」の実現に向け、光合成レドックス代謝ネットワークの完全理解に向けた構造生物学研究を推し進める。具体的には、(1) Fdへ電子を伝達する巨大膜タンパク質複合体である光化学系I複合体(PS1, 1,000kDa)、(2) 窒素同化酵素の代表であるFd依存性グルタミン酸合成酵素(Fd-

GOGAT, 170kDa), そして (3) 緑藻が持つ[FeFe]型ヒドロゲナーゼ (Fd-H₂ase, 47kDa) を取り上げ, それぞれ Fd との複合体状態での結晶構造を解析する。各酵素単体の構造とより機能状態に近い Fd との複合体構造の双方を単結晶構造解析により解析することで, アミノ酸残基の保存性や部位特異的変異実験で得られている知見以上の原子レベルでの相互作用様式を検証する。

【総合評価】

	特に優れた成果が得られている
○	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】

① 総合所見

本研究課題は、過渡的に形成される蛋白質複合体の構造解明を目指すもので、ラン藻の光化学系 I 複合体、グルタミン酸合成酵素、ヒドロゲナーゼの 3 種のタンパク質に焦点を絞り、立体構造の解明を目指した。その結果、前 2 者に関しては、結晶化とその立体構造解析に成功しており、後者においても不活性型の結晶化とその構造解析に成功している。活性型の結晶作製にも工夫をこらして研究を進めており、活性型ヒドロゲナーゼの立体構造の解析を期待する。これら高次複合体の構造解析は、過渡的状态における複合体構造の基盤を明らかにするものであり、高く評価される。

② 目的の達成状況

- ・ 所期の目的が
(全て達成された ・ 一部達成された ・ 達成されなかった)

本研究課題はフェレドキシン (Fd) を電子受容体とする 3 つの蛋白との複合体に関する構造解析を行うことで、ドイツ側共同研究者との連携でレドックス代謝系のネットワークの理解を目指している。具体的な目的の中で、本課題の中核であるヒドロゲナーゼ (HydA1) に関して活性型の結晶が得られておらず、活性型から不活性化する時間を長くする工夫が検討されている。また、光合成系 I (PSI) に関しては、Fe を Ge に置換することで複合体の解像度を高めることに成功しており、その構造解析結果をもとにした PSI-Fd の機能解析が行なわれている。さらにグルタミン酸合成酵素に関しては、2.0Å の構造解析ができており、その論文を準備中である。

③ 研究の成果

- ・ これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)
- ・ ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (□ある ・ ■ない)

本研究課題では、技術的に困難であった膜タンパク質などと Fe が過渡的状态で形成する複合体の構造解析に取り組んでおり、3つの複合体の構造解析を解析度のレベルは異なっても成功していることは、より高次の生命システムへの構造解析への飛躍を切り開く研究として極めて先進性が高いと評価できる。特に巨大膜タンパク質である PS1 は光合成反応の中心分子の1つであり、その構造決定が 4.2 Å の解像度でなされたこと、グルタミン酸合成酵素は 2 Å 分解能で構造解析できたことは、この機能の重要性から見て大きなインパクトがある。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が

(■見込まれる ・ □見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が

(■見込まれる ・ □見込まれない)

過渡期に形成されるタンパク質複合体の構造解明は、複合体機能の理解にも重要な知見を与えることを記しておきたい。波及効果が大きいので、光合成による水素エネルギーの生産という応用研究につながる活性型ヒドロゲナーゼの機能及び構造解析を成功させてほしい。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが (■行われた ・ □行われなかった)

本研究課題では、3つの複合体の構造解析を目指したが、扱いやすい酵素タンパク質から構造解析を行い、膜タンパク質である PS1 と不安定なタンパク質であるヒドロゲナーゼへの研究を展開して、全ての結晶化を可能にしており、適切な研究計画であったと思われる。また、ドイツの共同研究者との連携も学生の交換を実施して活発に行っており、この点も評価出来る。なお、この分野も国際的に競争の激しい分野なので、これまでの論文発表は順調であるが、今後の成果に関しても慎重・且つ迅速に論文発表が行われることが望まれる。