

学術賞

細胞の酸化ストレス制御の構造生物学

和田 啓
(宮崎大学医学部)

地球上の多くの生物が利用している「酸素 (O₂)」は、反応性が高いが故に、細胞は巧妙に O₂ を制御する必要がある。酸化ストレス (酸化還元状態の恒常性の破綻) による細胞障害は多岐にわたっており、この一義的な理解は困難である。これまでに私は、細胞が備え持つ「酸化障害防御の根幹を担う系」について3つの視点から研究を展開してきた。それらは、反応性の高い O₂ 種に対して①感知する、②消去する、③細胞を守る、である。結晶学的研究によって、これらの系が多成分複合体を形成する機構、多段階の分子スイッチを緻密にコントロールする仕組みを解明してきた。

① 酸素を感知する : [Fe₂-S₂], [Fe₄-S₄] などの鉄硫黄クラスターの生合成機構

すべての生物に必須な鉄硫黄クラスターは、蛋白質内部に保持されており O₂ に脆弱な物性をもつ。この脆弱性は、O₂ による蛋白質の構造変化のトリガーになることから、蛋白質に O₂ センサーの機能を賦与する。さらに鉄硫黄クラスターは、その反応性の高さから、さまざまな酵素の触媒中心の役割に加え、電子キャリアとしても機能している。微生物・植物においては、鉄硫黄クラスターは SUF マシナリーと呼ばれる一連の蛋白質複合体群により合成される。私は、[Fe₂-S₂], [Fe₄-S₄] などの鉄硫黄クラスターを持つ蛋白質の研究からスタートして、その後、SUF マ

シナリーの研究に進んだ。そうして SUF マシナリーは構成する個々の蛋白質が様々な組み合わせで複合体を形成することを発見した。これら複合体を含め、SUF マシナリー蛋白質群の立体構造を決定し、鉄硫黄クラスター合成に完全に特化した新たなフォールディングをもつ蛋白質 (SufD および SufB) が存在することを明らかにした。さらに、これらの蛋白質複合体がダイナミックな構造変化を起こすことによって、複合体内部に合成サイトを一過的に形成し、酸素に脆弱なクラスターを合成する機構を分光学・遺伝学・生化学的手法と”無酸素下での操作”を駆使して明らかにした。このような SUF マシナリーの作動機構は、生物界最大の膜輸送体スーパーファミリー (ABC-transporter) の原型であり、共通した原理で全く異なる機能 (クラスター合成と膜間輸送) を成し遂げるといふ驚きの可能性を示した。さらに最近では、複合体内部に「硫黄供給/貯蔵トンネル」を見出し、遺伝学的な解析と合わせて鉄硫黄クラスター合成機構を提唱している。

② 活性酸素を消去する : 過酸化水素消去系の反応機構

さまざまな活性酸素種の中で過酸化水素 (H₂O₂) は最も安定であり、これ自体がもつ酸化力に加えて、生体金属 (Fe²⁺) と反応するとさらに強力な酸化力を生み出す。細胞は酸化障害の根本要因を排除するために、H₂O₂ を消去するシステムを

備えている。その機能を担っているのがペルオキシダーゼという蛋白質である。私は、植物由来ペルオキシダーゼおよび微生物由来カタラーゼペルオキシダーゼ (KatG) と呼ばれる H_2O_2 消去酵素の構造機能解析を進めてきた。植物ではアスコルビン酸 (ビタミン C) を使って効率的に H_2O_2 を消去する仕組みが存在すること、微生物がもつ KatG では電子供与体の特異性について明らかにした。さらに、微生物に広く存在する KatG は、結核菌では結核治療薬イソニアジドの活性化を担うことや、KatG が結核治療薬の耐性に関わる機序を明らかにした。

③ 酸素から細胞を守る: 抗酸化物質グルタチオン (水溶性) およびビリルビン (脂溶性) の代謝機構

抗酸化物質には、それぞれ細胞の可溶性画分と膜画分で機能する 2 種の性質が異なる低分子化合物が存在する。私は、これらの 2 種類の抗酸化物による O_2 から細胞を守る仕組みの研究を行なった。

可溶性画分に高濃度 (mM オーダー) で存在する抗酸化物質グルタチオンはトリペプチド (γ -Glu-Cys-Gly) であるが、一般的なプロテアーゼによる分解を受けない。 γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT) はグルタチオンを分解できる唯一の酵素である。私が研究をスタートした当初 (2005 年頃) は、GGT の触媒残基ですら議論が続いていた状況であった。これまでの私の研究成果によって、GGT の触媒反応 (クライオトラッピングによる基質分解) および翻訳後修飾機構、共同開発した種々の阻害剤の結合様式、GGT がもつ特殊な塩耐性機構を明らかにしてきた。

一方、脂溶性抗酸化物質であるビリル

ビンの生合成機構も明らかにしてきた。ここでは、ビリベルジン還元酵素がユニークな基質認識/触媒機構を持つことを発見し、2 分子の基質 (ビリベルジン) が同時に結合し、その一方の基質骨格中のプロピオン側鎖が触媒残基の働きをするという他に類をみない反応機序を解明した。ビリベルジン還元酵素の発見以降 50 年以上の間謎に包まれていた反応機構を明確にすることができた。

これまで、”酸素分子”を軸にして、自分自身のなかでは一貫した研究課題を掲げ、結晶学と生化学を一体化できるように無酸素環境を駆使した研究を進めてきた。私の感覚では、生体内は想定されている以上に O_2 濃度が低く、局所的には無酸素に近い環境と捉えている。言い換えると、現在の常識である”実験室 (空気雰囲気下)”での研究では、理解が及んでいない蛋白質機能が数多く潜在していると考えている。ここ数年、CryoEM による構造解析が席卷し、トップジャーナルの蛋白質構造解析 = CryoEM という構図の黎明期になっている。私は、今後も結晶構造解析に注力し、無酸素実験環境と併せることで初めて明らかにできる生体反応を見出し、高スループットという結晶解析の特徴も最大限に活用した研究を極めたい所存です。

最後になりましたが、これまで私が甘え/頼りにさせて頂いた多くの先生方、共同研究で貴重な助言を頂いた先生方、また実質的に実験を共に進めてくれたうえに、研究生活を楽しく盛り上げてくれた研究室の多くの学生と技術補佐員の皆様に感謝の意を表します。