

# 中性子結晶構造解析によるフェレドキシン依存性ビリル還元酵素基質複合体の水素化状態 可視化

## Visualization of the protonation states of a ferredoxin-dependent bilin reductase, PcyA, in complex with its substrate revealed by neutron crystallography

○ 海野昌喜<sup>1,2</sup>、須藤久美子<sup>2</sup>、日下勝弘<sup>2</sup>、玉田太郎<sup>3</sup>、萩原義徳<sup>4</sup>、杉島正一<sup>5</sup>、和田啓<sup>6</sup>、山田太郎<sup>2</sup>、石原真樹子<sup>2</sup>、福山恵一<sup>7,8</sup>

<sup>1</sup>茨大・院理工、<sup>2</sup>茨大・フロンティア、<sup>3</sup>原子力機構・量子ビーム、<sup>4</sup>久留米高専・生物応用化学、<sup>5</sup>久留米大・医、<sup>6</sup>宮崎大・TT 推進機構、<sup>7</sup>阪大・院理、<sup>8</sup>阪大・院工

シアノバクテリアのフィコシアノビルンは、ビリベルジン IX $\alpha$  (BV)がフェレドキシン依存的な酵素 PcyA によって還元され生成する。PcyA 反応の特徴は、BV の 2 箇所に位置選択的 2 電子供与・2 水素添加し、しかもこの二段階反応が一定の順序で起こる点にある。PcyA の触媒反応において、各反応段階での「立体的な」水素位置を同定することは極めて重要である。分光学的な解析結果から PcyA に結合した BV は A 環および D 環のラクタム (-HN-C=O) 構造がラクチム (-N=C-OH) 構造でありそれが反応性とも関与するという示唆や、BV が PcyA に結合するとピロール環がすぐにプロトン化を受け BVH<sup>+</sup>になっているという報告もある。また、D 環ビニル基還元後の A 環へのプロトン供給は、近傍に現れる水分子が関与することが示唆されていた。しかし、水素が関与するそれらの示唆は、X 線結晶構造解析では明らかにできなかった。

本研究では、PcyA-BV 複合体の中性子結晶構造解析を行い、水素原子の可視化に成功した。BV の 4 つのピロール環の窒素原子全ての近傍に残余の中性子散乱長密度が見られ、これも重水素であると判断した。一方、ラクタム酸素の周辺には残余中性子散乱長密度は見られず、ラクチム構造は存在しなかった。Asp105 は X 線低温構造と同様に二重配座をとっていたが、一方のコンフォメーションには水素（重水素）に相当する中性子散乱長密度が見られ、もう一方には無かった。His88 は水素化しており、その水素が A 環のラクタム酸素と水素結合を形成していた。また、His88 の近くにヒドロニウムイオン (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) と思われる中性子散乱長密度を見出した。さらに、同定できていなかった BV 近傍の水分子 (H-O-H) の存在と配向が確認できた。この結果から PcyA の特異な反応機構について議論したい。