

[FeFe]ヒドロゲナーゼの電子伝達経路の構造学的研究

(奈良先端大¹・ヨーク大²・マックスプランク研³) ○緒方 英明¹・Chris Furlan²・Nipa Chongdar³・Pooja Gupta²・Wolfgang Lubitz³・James N Blaza²・James A Birrell³

Structural analysis of an electron bifurcating [FeFe] hydrogenase (¹Nara Institute of Science and Technology, ²The University of York, ³Max Planck Institute for Chemical Energy Conversion) ○Hideaki Ogata,¹ Chris Furlan,² Nipa Chongdar,³ Pooja Gupta,² Wolfgang Lubitz,³ James N Blaza,² James A Birrell³

Hydrogenases are metalloenzyme and catalyze the reversible proton reduction. These enzymes are divided into three groups depending on the metal composition of the active site, [NiFe], [FeFe] and [Fe] hydrogenases. Furthermore, [FeFe] hydrogenases are classified into three subgroups, (1) prototypical (catalytic) and electron-bifurcating type, (2) ancestral, and (3) sensory type. We have cloned the electron-bifurcating [FeFe] hydrogenase from hyperthermophilic bacterium *Thermotoga maritima* and overexpressed it in *Escherichia coli*. An electron-bifurcating [FeFe] hydrogenase is composed of three subunits, containing the diiron active site and the Fe-S clusters. The active site of the enzyme was artificially reconstituted with the diiron synthetic precursor. The artificially matured [FeFe] hydrogenase showed the catalytic activity comparable to the wild type enzyme. We characterized the several oxidation states of the active site of the enzyme by FT-IR spectroscopy and EPR spectroscopy¹. We determined the cryo-electron microscopy structure and revealed the novel electron transfer pathways.

Keywords : Hydrogenase; Cryo-electron microscopy; Metalloenzyme; Electron transfer

[FeFe]ヒドロゲナーゼは、分子状水素を合成または分解する反応を触媒する金属酵素である。この[FeFe]ヒドロゲナーゼは、3つのグループに分類される：1) 触媒型と電子伝達分岐型、2) 祖先型と3) センサー型。本研究では超好熱菌 *Thermotoga maritima* 由来の“電子伝達分岐型[FeFe]ヒドロゲナーゼ”(HydABC)の反応機構を明らかにするために立体構造の決定を行った。電子伝達分岐型[FeFe]ヒドロゲナーゼは、Hクラスターと呼ばれる二核鉄錯体活性中心や鉄硫黄クラスターを持つ3つのサブユニットから構成される。電気化学的赤外分光法により活性中心は2つの酸化還元状態を取ることが分かった¹。もっとも酸化された状態では、活性中心はFe(I)Fe(II)と2価の鉄硫黄クラスターであった。この状態から1電子還元されると2核鉄錯体が還元され、鉄硫黄クラスターは2価のままであることが分かった。クライオ電子顕微鏡法によって電子伝達分岐型[FeFe]ヒドロゲナーゼの立体構造を決定した結果、4プロトマーで構成される複合体の複雑な電子伝達経路が明らかとなった。

1) Spectroscopic and biochemical insight into an electron bifurcating [FeFe] hydrogenase. N. Chongdar, K. Pawlak, O. Rüdiger, E. J. Reijerse, P. Rodríguez-Maciá, W. Lubitz, J. A. Birrell, H. Ogata, *J. Biol. Inorg. Chem.* **2020**, 25, 135.