(様式 1-1)

提出日: 2025 年 4月14日

2024 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除してください。) 共同研究員

(2) 研究代表者

氏名:伊藤 寿

所属機関名・部局名・職名:北海道大学・低温科学研究所・助教

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同じ課題名を記入してください。)

クロロフィルのマグネシウム脱離酵素の構造解析

(4)蛋白質研究所受入担当教員

教員名:栗栖源嗣 (研究室名:蛋白質結晶学研究室)

(5) 研究成果の概要

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

背景および目的

クロロフィルは閉環テトラピロール構造よりなり、中心にマグネシウムを持つ。クロロフィルの分解はマグネシウム脱離酵素によってこのマグネシウムが外され、プロトンと置換することにより始まる。このマグネシウム脱離酵素はクロロフィル分解の律速段階を触媒する酵素であり、クロロフィル分解を理解するうえで最も重要な酵素である。しかしその活性が測定できなかったことから酵素の詳細な性質は不明であった。そうした中、植物のマグネシウム脱離酵素と相同な遺伝子がバクテリアにも存在することを見出し、活性のある組換えタンパク質の大量調製に成功し、その構造も明らかにした。そこで、このタンパク質を用いて様々な基質に対するマグネシウム脱離酵素の活性を測定し、その反応機構の解明を試みた。

方法と結果

材料としてバクテリアである Anaerolineae bacterium の遺伝子を利用した。大腸菌で発現したものをニッケルカラムにより精製して用いた。天然のクロロフィル a を加工し、安定であり異性体のない methyl pyropheophorbide a を調製しその側鎖を修飾し、マグネシウムを挿入したものを基質としてマグネシウムの脱離反応を調べた。その結果、電子吸引性のある側鎖を導入した場合やサイズの大きいスチリル基を導入した場合、マグネシウムの脱離活性が低下することが明らかとなった。これらの結果から基質の側鎖が酵素活性に影響をあたることが示された。基質と酵素の共結晶とその構造解析に成功すると、より詳細な反応機構が明らかになると期待される。