

Structural analysis of mercuric reductase from *Thermus Thermophilus* HB8

水銀還元酵素の結晶構造解析

Hiroshi Hashimoto, Naoki Shichijo, Toshiyuki Shimizu, Mamoru Sato

橋本 博, 七條 直記, 清水 敏之, 佐藤 衛

(Yokohama City University)

(横浜市立大学)

e-mail: {hash, msato}@tsurumi.yokohama-cu.ac.jp

環境中には、金属水銀、硫化水銀、水銀イオン、有機水銀などの水銀化合物が存在している。これらは相互に平衡状態にあり、水圏や大気圏を経由して地球規模で移動し、食物連鎖網にとりこまれ生物濃縮されることが問題になっている。水銀化合物のなかでも、特に水銀イオンやメチル水銀などの有機水銀は体内に入ると重篤な健康障害を引き起こすため、これらはもっとも有害な化学物質の一つであるといえる。

微生物のなかには、水銀耐性遺伝子 *mer* を持つものが存在し、上記のような水銀化合物存在下でも生育可能なものもある。そのような微生物は、有毒な水銀イオンや有機水銀を、より毒性の低い金属水銀に還元することができる。一般に、微生物の *mer* 遺伝子はオペロンを形成しており、これらの遺伝子群を利用した水銀のバイオリメディエーション研究が注目されている。

有機水銀は微生物によって2段階の反応で金属水銀に変換される (**Figure 1**)。まず1段階目では、有機水銀が organomercurial lyase (MerB) により水銀イオンに変換される。次に2段階目では、水銀イオンが mercuric reductase (MerA) により金属水銀に還元される。本研究では *Thermus thermophilus* HB8 の産出する耐熱性 mercuric reductase (*TthMerA*) の結晶構造解析を進めている。

*TthMerA* は、アミノ酸残基数 458 のポリペプチド鎖が2分子会合した分子量 96 kDa の2量体分子として存在している。補酵素として、モノマーあたり1分子の FAD を含み、そのためタンパク質溶液は明るい黄色を呈する。*TthMerA* の結晶化はハンギングドロップ蒸気拡散法で行った。市販のスクリーニング溶液を中心に結晶化条件の検索および最適化を行い、回折実験に適した結晶を得ることに成功した。回折強度データの収集は、高エネルギー加速器研究機構放射光実験施設 PF-AR ビームライン NW12 で行った (**Table 1**)。 *TthMerA* の構造解析は、*Bacillus* sp. strain RC607 由来 mercuric reductase の構造<sup>1)</sup>をモデル分子とした分子置換法で行った。分子置換プログラムは *MOLREP* を使用した。現在、プログラム *CNS* と *REFMAC* を用いて構造精密化を進めているところである。

**Figure 1.** Detoxification of organomercurials**Table 1.** Crystallographic data of *TthMerA*

Space group	<i>P</i> 3 <sub>2</sub>
Cell dimensions	<i>a</i> = <i>b</i> = 128.30, <i>c</i> = 168.49 Å, <i>γ</i> = 120°
Resolution	50 – 2.3 Å
Total reflections	766,093
Unique reflections	136,781
<i>R</i> <sub>merge</sub>	9.7% (29.7%)
Completeness	99.2% (98.7%)

**Reference**[1] Schiering *et al.* & Pai, *Nature* **352**, 168-172 (1991)