

ミトコンドリア呼吸系膜蛋白質複合体の構造と機能

Structural and Functional studies on membrane protein complexes of the mitochondrial respiratory system

吉川信也・村本和優・伊藤恭子

Yoshikawa, S., Muramoto, K., Shinzawa-Itoh, K.

ミトコンドリア呼吸系による細胞呼吸はプロトンポンプ機能をもつ4種類の膜蛋白質複合体によって駆動されている。細胞呼吸は生命の維持に最も重要な生理過程であるため、古くから多種多様の研究がなされている。X線構造を高分解能で解明することなしに、これらの膜蛋白質複合体の機能の本質を理解することは不可能であることは明らかである。しかし、このように巨大な膜蛋白質複合体の結晶化にはどれだけの労力と時間が必要であるかを見積もることが困難であるため、本格的に結晶化に取り組んでいる研究グループは非常に少ない。しかし、研究の学術的重要性が高いほど、成果に対する労力の比を見積もることがより困難である。我々はミトコンドリア呼吸系膜蛋白質の結晶化を最重要目標として、当研究分野発足以来、地道に研究教育に取り組んでいる。

発表論文 List of Publications

- 1 Distinguishing between Cl^- and O_2^{2-} as the bridging element between Fe^{3+} and Cu^{2+} in resting-oxidized cytochrome c oxidase. Michihiro Suga, Naomine Yano, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, Tomoko Maeda, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa *Acta crystallographica. Section D*, 67, 742-744 (2011).
- 2 NMR basis for interprotein electron transfer gating between cytochrome c and cytochrome c oxidase. Koichi Sakamoto, Masakatsu Kamiya, Mizue Imai, Kyoko Shinzawa-Itoh, Takeshi Uchida, Keiichi Kawano, Shinya Yoshikawa, Koichiro Ishimori, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 12271-12276 (2011).
- 3 The O_2 reduction and proton pumping gate mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase. Shinya Yoshikawa, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, *Biochimica et Biophysica acta* 1807, 1279-1286 (2011).

- 4 Proton-pumping mechanism of cytochrome *c* oxidase. Shinya Yoshikawa, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, *Annual Review of Biophysics* 40, 205-223 (2011).
- 5 High resolution structures of bovine cytochrome *c* oxidase in the resting oxidized and reduced states, Kazumasa Muramoto, *Gordon Research Conferences, Bioenergetics*, Andover NH USA, June 26-July 1(2011)
- 6 Reaction mechanism of bovine heart cytochrome *c* oxidase, Shinya Yoshikawa, *Gordon Research Conferences, Bioenergetics*, Andover NH USA, June 26-July 1(2011)
- 7 Diversity in proton pumping mechanism of the terminal oxidases, Hideo Shimada, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 8 Introduction: cytochrome *c* oxidase, a case study towards quantum structural biological understanding of protein function, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 9 X-ray structural analysis of R and O form intermediates of bovine cytochrome *c* oxidase, Hidenori Fujisawa, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 10 X-ray structural analysis of P intermediate of bovine cytochrome *c* oxidase, Rika Kito, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 11 X-ray structural analysis of F form intermediate of bovine cytochrome *c* oxidase, Ai Sasaki, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 12 X-ray structural analysis of cytochrome *c* oxidase, in the resting oxidized state at 1.4 Å resolution, Naomine Yano Rika Kito, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 13 Mutagenesis analysis of proton transport pathway suggested by X-ray structure of bovine heart cytochrome *c* oxidase, Ryota Aminaka, Kunitoshi Shimokata, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Hideo Shimada, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）

- 14 Development of a *Paracoccus denitrificans* cell-free protein synthesis system, Yukie Katayama, Mai Itoh, Shinya Yoshikawa, Hideo Shimada, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 15 Crystallization of bovine heart cytochrome *c* oxidase by detergent mixtures, Miki Hatanaka, Tomoko Maeda, Tomonori Misaki, Takashi Sugimura, Kyoko Shinzawa-Itoh, Kazumasa Muramoto, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 16 The effect of crystallization and cryoprotectant treatment on the absorption spectra of fully-oxidized cytochrome *c* oxidase, Masao Mochizuki, Ayumi Shibata, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, Tomoko Maeda, Shinya Yoshikawa
- 17 The chemical nature of the bridging ligand at the oxygen reduction site of the resting oxidized cytochrome *c* oxidase, Miyuki Sakaguti, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 18 Resonance Raman study on cytochrome *c* oxidase reconstituted in phospholipid vesicles, Takashi Nomura, Sachiko Yanagisawa, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 19 Optimization of expression condition and purification of *ccb₃*-type cytochrome *c* oxidase, Yuriko Ando, Akari Sakamoto, Hideo Shimada, Kyoko Shinzawa-Itoh, Robert Gennis, Shinya Yoshikawa, Kazumasa Muramoto, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 20 Protein dynamics and reaction mechanism of cytochrome *c* oxidase: resonance Raman spectroscopy, Izumi Ishigami, Takashi Nishigaki, Satoru Nakashima, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Takashi Ogura, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 21 Protein dynamics of cytochrome *c* oxidase upon CN⁻ photolysis as studied with resonance Raman spectroscopy, Takashi Nishigaki, Satoru Nakashima, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Takashi Ogura, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 22 Structural analysis of FMN and iron-sulfur clusters of bovine heart NADH-ubiquinone oxidoreductase by resonance Raman spectroscopy, Masahide Hikita, Satoru Shimada, Kyoko Shinzawa-Itoh, Takashi Ogura, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）

- 23 Preparation and structural analysis of the membrane embedded rotor ring of the FoF1 ATP synthase from bovine heart muscle, Shintaro Maeda, Chimari Jiko, Christoph Gerle, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, 第49回日本生物物理学会年会、2011年9月16日～16日、兵庫県立大学（姫路）（口頭）
- 24 ウシ心筋チトクロム酸化酵素の還元・再酸化による構造変化：村本和優・田村直樹・藤澤秀徳・前田友子・伊藤=新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 25 ウシ心筋チトクロム酸化酵素還元型の1.4 Å分解能X線構造解析：藤澤秀徳・村本和優・矢野直峰・前田友子・伊藤=新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 26 NADH-ユビキノン酸化還元酵素の2次元結晶化：島田 悟・中川聡子・引田理英・伊藤=新澤 恭子・Christoph Gerle・谷 一寿・藤吉好則・宮澤淳夫・吉川信也、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 27 NADH - ユビキノン酸化還元酵素のFMNとFe-S クラスターの酸化還元状態による共鳴ラマンスペクトルの変化：引田理英・島田 悟・小倉尚志・伊藤=新澤 恭子・吉川信也、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 28 ウシ心筋チトクロム酸化酵素休止酸化型の1.4 Å分解能X線構造解析：矢野直峰・村本和優・中川徹也・前田友子・伊藤=新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 29 チトクロムcbb3酸化酵素の発現と精製：安藤友里子・伊藤=新澤 恭子・島田秀夫・Robert B Gennis・吉川信也・村本和優、第11回日本蛋白質科学会年会、2011年6月7日～9日（大阪）（ポスター）
- 30 チトクロム酸化酵素反応中間体（P型、F型、O型）の構造解析：木登梨佳・村本和優・佐々木歩惟・藤澤秀徳・前田友子・伊藤=新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、日本生体エネルギー研究会第37回討論会、2011年12月20日22日（京都）（ポスター）
- 31 チトクロム酸化酵素反応サイクルの構造解析：村本和優・木登梨佳・佐々木歩惟・藤澤秀徳・前田友子・伊藤=新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、日本生体エネルギー研究会第37回討論会、2011年12月20日22日（京都）（ポスター）

大学院生命科学研究科

博士後期課程

- 引田理英 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の振動分光解析
前田晋太郎 : ミトコンドリア呼吸鎖 F_0F_1 ATPase の構造解析
矢野直峰 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能構造解析
島田 悟 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の構造解析

博士前期課程

- 木登梨佳 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の反応中間体の構造解析
佐々木歩唯 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の反応中間体の構造解析
安藤友里子 : 細菌呼吸鎖末端酸化酵素の構造と機能
押田幸歩 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素/チトクロム c 共結晶の構造解析
畑中美紀 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能構造解析

科学研究費補助金等

1 文部科学省グローバル COE プログラム (平成 23 年度)

- 研究課題 ピコバイオロジー：原子レベルの生命科学
拠点リーダー 吉川信也

2 文部科学省科学研究費補助金 (平成 23 年度) 基盤研究 A

- 研究課題 哺乳動物ミトコンドリア呼吸機構の原子レベルの解明
研究代表者 吉川信也

3 文部科学省科学研究費補助金 (平成 23 年度) 基盤研究 B

- 研究課題 ヘム・銅酸素還元酵素のエネルギー変換機構解明のための構造・機能解析
研究代表者 村本和優

4 文部科学省科学研究費補助金 (平成 23 年度) 基盤研究 C

- 研究課題 ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の反応機構の解明
研究代表者 伊藤恭子