

## 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

(城宜嗣)・村本和優・伊藤恭子

(Shiro, Y.), 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 Hikita M, Shinzawa-Itoh K, Moriyama M, Ogura T, Kihira K, Yoshikawa S. Resonance Raman spectral properties of FMN of bovine heart NADH:ubiquinone oxidoreductase suggesting a mechanism for the prevention of spontaneous production of reactive oxygen species. *Biochemistry* **52**, 98-104 (2013).
- 2 Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K. Reaction mechanism of mammalian mitochondrial cytochrome *c* oxidase. In Mitochondrial oxidative phosphorylation. ed. Kadenbach, Bernhard. *Advances in experimental medicine and biology* **748**, 215-236 Springer (2012).
- 3 Ohnishi T, Ohnishi ST, Shinzawa-Itoh K, Yoshikawa S, Weber RT. EPR detection of two protein-associated ubiquinone components (SQ(Nf) and SQ(Ns)) in the membrane in situ and in proteoliposomes of isolated bovine heart complex I. *Biochim Biophys Acta*. **1817**,

- 1803-1809 (2012).
- 4 Yu MA, Egawa T, Shinzawa-Itoh K, Yoshikawa S, Guallar V, Yeh SR, Rousseau DL, Gerfen GJ. Two tyrosyl radicals stabilize high oxidation states in cytochrome *c* oxidase for efficient energy conservation and proton translocation. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 4753-47561 (2012).
  - 5 Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Mochizuki M. Structural studies on bovine heart cytochrome *c* oxidase. *Biochim Biophys Acta.* **1817**, 579-589 (2012).
  - 6 引田理英・小倉尚志・伊藤（新澤）恭子・吉川信也、ミトコンドリア呼吸鎖電子伝達系複合体 I に含まれるFMNの共鳴ラマンスペクトル、日本化学会 第93春季年会、2013年3月23日、立命館大学びわこ・くさつキャンパス（滋賀県）（口頭）
  - 7 村本和優・安藤友里子・岩本 唯・伊藤（新澤）恭子・Robert B Gennis・城 宜嗣、細菌呼吸鎖 $cbb_3$ 型酸素還元酵素の精製と活性測定、日本生体エネルギー研究会 第38回討論会、2012年12月24日、岡山大学薬学部 大講義室（岡山県）（ポスター）
  - 8 矢野直峰・村本和優・前田友子・伊藤（新澤）恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也・城 宜嗣、ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能X線構造解析と水クラスターの役割、日本生体エネルギー研究会 第38回討論会、2012年12月24日、岡山大学薬学部 大講義室（岡山県）（ポスター）
  - 9 押田幸歩・Christoph Gerle・伊藤（新澤）恭子・吉川信也、電子線結晶構造解析によるウシ心筋チトクロム酸化酵素・チトクロムC複合体の立体構造解明、日本生体エネルギー研究会 第38回討論会、2012年12月23日、岡山大学薬学部 大講義室（岡山県）（口頭）
  - 10 岩本 唯・安藤友里子・村本和優・Robert Gennis・城 宜嗣、Oxygen consumption activity of  $cbb_3$ -type cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会、2012年9月23日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（ポスター）
  - 11 安藤友里子・岩本 唯・村本和優・島田秀夫・Robert Gennis・城宜嗣 Purification of  $cbb_3$ -type cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会、2012年9月23日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（ポスター）
  - 12 久保 稔・望月正雄・伊藤（新澤）恭子・吉川信也・小倉尚志、ポンプ・プローブレーザーと同期したパルスフローシステムの開発とそれを用いたタンパク質の時間分解赤外分光解析、日本生物物理学会、2012年9月24日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（口頭）
  - 13 石上泉・伊藤（新澤）恭子・吉川信也・中島 聡・小倉尚志、An Intermediate Conformation of Cytochrome Oxidase in the Ligand-Free State Identified by Time-Resolved Resonance Raman Spectroscopy、日本生物物理学会、2012年9月24日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（口頭）

- 14 矢野直峰・村本和優・伊藤（新澤）恭子・前田友子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、X-ray structural analysis of bovine heart cytochrome c oxidase to clarify redox coupled structural changes at H atom level. 日本生物物理学会、2012年9月23日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（ポスター）
- 15 矢野直峰・村本和優・小嶋誠司・本間道夫・城 宜嗣、Gene cloning and identification of terminal oxidase of respiratory chain in *Vibrio alginolyticus*. 日本生物物理学会、2012年9月23日、名古屋大学・東山キャンパス（愛知県）（ポスター）
- 16 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、ウシ心筋チトクロム酸化酵素反応中間体のX線結晶構造解析、第12回日本蛋白質科学会年会、2012年6月22日、名古屋国際会議場（愛知県）（ポスター）
- 17 矢野直峰・村本和優・伊藤（新澤）恭子・前田友子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、ウシ心筋チトクロム酸化酵素休止酸化型の高分解能X線結晶構造解析、第12回日本蛋白質科学会年会、2012年6月21日、名古屋国際会議場（愛知県）（ポスター）
- 18 畑中美紀・藤田和也・矢野直峰・前田友子・伊藤（新澤）恭子・村本和優・山下栄樹・月原富武・吉川信也、氷晶防止剤の導入方法によるウシ心筋チトクロム酸化酵素結晶の分解能の向上、第12回日本蛋白質科学会年会、2012年6月21日、名古屋国際会議場（愛知県）（ポスター）
- 19 押田幸歩・Christoph Gerle・伊藤（新澤）恭子・吉川信也、電子線結晶構造解析によるウシ心筋チトクロム酸化酵素・チトクロムC複合体の立体構造解明、第12回日本蛋白質科学会年会、2012年6月21日、名古屋国際会議場（愛知県）（ポスター）
- 20 島田悟・明楽祐依・伊藤（新澤）恭子・吉川信也、ウシ心筋NADH - ユビキノン酸化還元酵素の2次元結晶化、第12回日本蛋白質科学会年会、2012年6月20日、名古屋国際会議場（愛知県）（ポスター）

## 大学院生命理学研究科

### 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

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

岩本 唯：細菌呼吸鎖末端酸化酵素の構造と機能

## 科学研究費補助金等

### 1 文部科学省科学研究費補助金（平成 24 年度）基盤研究 B

研究課題　　へム・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

### 2 文部科学省科学研究費補助金（平成 24 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