

タンパク質の機能メカニズムの研究

Studies on functional mechanism of proteins

島田秀夫・網中良太（客員）

Shimada, H., Aminaka, R.

生物は細胞によって構成され、細胞の活動は、多種類の酵素・タンパク質の働きによって支えられている。酵素・タンパク質は、固有のアミノ酸配列と立体構造をもつ。その機能は、どのように発揮されるのだろうか？ 構造に基づいて、機能メカニズムを提案し、それを検証して解明に務める。アミノ酸残基の役割の検証には、部位特異的アミノ酸置換を用いた解析が有効である。

チトクロム *c* 酸化酵素 (CcO) は、細胞呼吸系の末端に位置し、酸素分子を還元し水分子を形成するとともに水素イオン (H^+) を、ミトコンドリア (mt) 内膜 (細菌では細胞膜) を横断して能動輸送 (H^+ ポンプと呼ぶ) する。細菌 CcO で提案されている H^+ ポンプ経路と酷似した構造が、ウシ心筋 CcO に見いだされている。変異体解析によって、この経路の H^+ ポンプ能は否定された。しかし、酸素を還元して水を生成するための H^+ 輸送経路であると示唆された。また本変異体解析に用いる HeLa 細胞発現系では、ウシ心筋 CcO の mt 由来サブユニット遺伝子を染色体に取り込ませ、合成されたタンパク質を細胞質から mt に輸送し、ウシ・ヒト雑種 CcO 形成させている。野生型遺伝子発現細胞では、mt の酵素 (核および mtDNA 由来) が特異的に増加する。mt の核由来タンパク質 (mtDNA の転写因子を含む) の転写因子である核呼吸因子 (NRF1) の転写誘導と、mt の生合成と機能に必須である転写補助因子 PGC1 α の安定化を見いだした。これが mt に特異的な上記変化の原因であると示唆される。

チトクロム P450 は、酸素分子の O-O 結合を還元的に開裂し、その一原子を有機物質に導入する反応を触媒する。活性部位は、複数の水分子に占められており、有機物質である基質によって排除される。速やかな排除は酵素機能に不可欠である。我々は、基質侵入経路ではない特定の経路を通じて排出される機構を提案し、変異体とその構造解析によって検証し、提案を支持している。

発表論文 List of Publication

1. Mutagenesis analyses of D-pathway of bovine heart cytochrome c oxidase suggest that the pathway does not transfer the pumping protons, Ryohta Aminaka, Mai Itoh, Kunitoshi

- Shimokata, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa¹, and Hideo Shimada¹, 17th European Bioenergetics Conference, September 19, Freiberg, Germany, 2012 (Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, Volume 1817, Supplement, October 2012, Page S104)
2. Exclusion of the active site waters by substrate in cytochrome P450cam - Mutagenesis verification of water expelling pathway equipped with gate -, Ayaka Kishimoto, Keisuke Sakurai, Kenji Takagi, Tsunehiro Mizushima, Takashi Hayashi, Hideo Shimada, 第50回日本生物物理学会、9月23日、名古屋、2012
 3. Norcamphor binding to cytochrome P450cam with a mutation to block pathway for the active site waters excluded by substrate, Natsumi Kitamura, Aya Amano, Ayaka Kishimoto, Keisuke Sakurai, Kenji Takagi, Tsunehiro Mizushima, Takashi Hayashi, Hideo Shimada, 第50回日本生物物理学会、9月23日、名古屋、2012
 4. Characterization by mutagenesis analysis of putative proton transfer pathway, D-pathway of bovine heart cytochrome *c* oxidase, Ryohta Aminaka, Kunitoshi Shimokata, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, and Hideo Shimada, 第50回日本生物物理学会、9月24日、名古屋、2012
 5. Substrate-gated channel for exclusion of waters occupying the active site of cytochrome P450cam, Hideo Shimada, Ayaka Kishimoto, Rie Fujii, Aya Amano, Keisuke Sakurai, Kunitoshi Shimokata, Kenji Takagi, Tsunehiro Mizushima, Katsuyoshi Harada, Takashi Hayashi, 50th Anniversary Symposium on Cytochrome P450 in Fukuoka, December 3, 2012
 6. チトクロム *c* 酸化酵素のミトコンドリア由来サブユニット I による HeLa 細胞ミトコンドリアの核およびミトコンドリア由来タンパク質の発現誘導、網中良太・伊藤真衣・下方国稔・末松 誠・月原富武・吉川信也・島田秀夫、第50回日本生化学会、12月15日、福岡、2012
 7. ミトコンドリアによる核の新規制御機構 — チトクロム *c* 酸化酵素のミトコンドリア由来サブユニットによる核呼吸因子 (NRF) の発現誘導、網中良太・伊藤真衣・下方国稔・末松 誠・月原富武・吉川信也・島田秀夫、日本生体エネルギー研究会 第38回討論会、12月22—23日、岡山、2012