

Supramolecular Structural Biology

細胞膜超分子複合体機能解析学

I 金属蛋白質の構造機能解析

Structural and Functional Studies of Some Metalloproteins

城 宜嗣

Shiro, Y.

生体内には数多くの金属蛋白質・金属酵素が存在し、酸化還元あるいは酸塩基触媒反応、気体分子の運搬・貯蔵・センシングなどさまざまな生理機能を関与している。本グループでは、SPring-8およびSACLAを用いて様々な金属蛋白質・金属酵素の結晶構造や溶液構造を解析し、構造に基づいた分光学的な特徴と生化学的な機能解析から触媒反応の仕組みを解明する研究を展開している。本年度は緑膿菌で脱窒に関与する一酸化窒素還元酵素（膜結合型蛋白質）の反応中間体の時間分解分光測定を行い、活性中心の金属への一酸化窒素の配位構造に関する知見を得た。また、脱窒過程で機能する複数の酵素の超分子複合体の結晶化を試みるとともに、複合体形成の際の相互作用の解析を行った。SACLAを利用した研究では、カビ由来一酸化窒素還元酵素であるシトクロム P450_{nor} の構造解析を行い、放射線損傷の無い状態での一酸化窒素のヘム鉄への配位構造の特徴を明らかにした。

II 生体内の金属動態の構造生物学的研究

Structural Biology on Metal Dynamics in Cell

杉本 宏

Sugimoto, H.

微量生体金属元素の細胞内への吸収・運搬・濃度感知などの生体内動態に関わるタンパク質の分子機能と作動機構を解明することを目的とし、関連する膜タンパク質の立体構造解析を進めている。病原性細菌は宿主体内に多く存在するヘモグロビンからヘム（鉄-ポルフィリン錯体）を奪いとり、膜内在型のヘムトランスポーターを利用して細胞内に取り込むことで増殖に利用している。本年度は、ヘム獲得システムで機能するヘム結合タンパク質の好熱菌のホモログの結晶構造解析と分光解析を行い、種の違いによる多様なヘムの認識様式と構造変化の機構を

明らかにした。また、ヒトの腸管での鉄イオン吸収に関与している鉄還元酵素 Dcytb の機能構造解析を目的として、今年度は界面活性剤中および脂質中での結晶化を行い、SPring-8 において X 線回折データの収集を実施して構造解析を進展させた。

発表論文 List of Publications

- I-1 Kimi Matsumoto, Erina Terasaka, Takehiko Tosha, Yoshitsugu Shiro “Evaluation of NO channeling activity between Nitric Oxide Reductase and Nitrite Reductase” RIKEN Symposium “Metals in Biology” in Wako (和光市) 2015 年
- I-2 Takuma Nishida, Takehiko Tosha, Hiroshi Sugimoto, Tetsunari Kimura, Kunio Hirata, Go Ueno, Hideo Ago, Masaki Yamamoto, Yoshitsugu Shiro, Minoru Kubo ”Damage Free X-ray Crystallographic Analysis of P450nor in the NO Bond Form Using SACLA” RIKEN Symposium “Metals in Biology” in Wako (和光市) 2015 年
- I-3 Kimi Matsumoto, Erina Terasaka, Takehiko Tosha, Yoshitsugu Shiro “Mechanism for effective nitric oxide decomposition in microbial denitrification” 第 3 回ピコバイオロジー研究所国際シンポジウム (赤穂) 2015 年
- I-4 Takuma Nishida, Takehiko Tosha, Hiroshi Sugimoto, Tetsunari Kimura, Kunio Hirata, Go Ueno, Hideo Ago, Masaki Yamamoto, Yoshitsugu Shiro, Minoru Kubo “Radiation damage-free X-ray crystallographic analysis of P450nor in the NO bound form using SACLA” 第 3 回ピコバイオロジー研究所国際シンポジウム (赤穂) 2015 年
- I-5 Mariko Takeda, Raika Yamagiwa, Hitomi Sawai, Takehiko Tosha, Hiro Nakamura, Yoshitsugu Shiro “Mechanism for effective nitric oxide decomposition in microbial denitrification” 第 3 回ピコバイオロジー研究所国際シンポジウム (赤穂) 2015 年
- I-6 松本喜慎・寺坂瑛里奈・當舎武彦・城 宜嗣 「亜硝酸還元酵素・一酸化窒素還元酵素間における NO 受け渡し機構の観測」第 15 回日本蛋白質科学会年会 (徳島市) 2015 年
- I-7 西田拓真・當舎武彦・坂口美幸・木村哲就・柳澤幸子・上野 剛・村上博則・山本雅貴・小倉尚志・城 宜嗣・久保 稔「ケージド NO を用いた脱窒カビ由来 NO 還元酵素結晶における反応中間体の調製」第 15 回日本蛋白質科学会年会 (徳島市) 2015 年
- I-8 西田拓真・當舎武彦・杉本 宏・木村哲就・平田邦夫・上野 剛・吾郷日出夫・山本雅貴・城 宜嗣・久保 稔「SACLA を用いた脱窒カビ由来 NO 還元酵素の基質結合型無損傷 X 線結晶構造解析」平成 27 年度 日本結晶学会 (堺市) 2015 年
- I-9 松本喜慎・寺坂瑛里奈・當舎武彦・城 宜嗣 「亜硝酸還元酵素・一酸化窒素還元酵素間における NO チャネリング機構の観測」第 38 回日本分子生物学会年会、第 88 回日本生化学

会大会 合同大会（神戸市）2015年

- I-10 西田拓真・當舎武彦・杉本 宏・木村哲就・平田邦夫・上野 剛・吾郷日出夫・山本雅貴・城 宜嗣・久保 稔 「X線自由電子レーザーを用いた脱窒カビ由来 NO 還元酵素基質結合型の無損傷結晶構造解析」第38回日本分子生物学会年会、第88回日本生化学会大会 合同大会（神戸市）2015年
- II-1 Akihiro Doi, Hiro Nakamura, Yoshitsugu Shiro, Hiroshi Sugimoto “Structure of the response regulator ChrA in the haem-sensing two-component system of *Corynebacterium diphtheria*”. *Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Commun.* 71, 966-71 (2015)
- II-2 Nozomi Nakamura, Youichi Naoe, Akihiro Doi, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Structural basis for transport mechanism of the bacterial heme importer”, 第3回ピコバイオロジー研究所国際シンポジウム（赤穂）2015年
- II-3 Md. Mahfuzur Rahman, Nozomi Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Structural analysis of a periplasmic heme-binding protein in bacterial heme importer system” 13th Asian Crystallographic Association Meeting (AsCA 2015) (Kolkata India) 2015年
- II-4 Md. Mahfuzur Rahman, Nozomi Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro “Structural Analysis of a Periplasmic Heme-binding Protein in Bacterial Heme Importer System”, University of Hyogo and University of Putra Malaysia 2nd Joint symposium（赤穂）2015年
- II-5 Nozomi Nakamura, Youichi Naoe, Akihiro Doi, Hiro Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Structural basis of the heme recognition by bacterial heme transporter” Metals in Biology in Wako（和光市）2015年
- II-6 Hanae Takeda, Hiromi Togashi, Tetsunari Kimura, Grant Mauk, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro “Stopped-flow kinetic analysis of human duodenal cytochrome b_{561} ” International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM) (Honolulu) 2015年
- II-7 Hanae Takeda, Hiromi Togashi, Tetsunari Kimura, Grant A. Mauk, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Electron transfer mechanisms of human duodenal cytochrome b_{561} ”, 第3回ピコバイオロジー研究所国際シンポジウム（赤穂）2015年
- II-8 Hanae Takeda, Hiromi Togashi, Tetsunari Kimura, Grant A. Mauk, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro ”Stopped-flow Analysis on the Reaction of Ascorbate with Duodenal Cytochrome b_{561} ” Metals in Biology in Wako（和光市）2015年
- II-9 中村希・直江洋一・土井章弘・中村寛夫・杉本宏・城宜嗣 「病原菌由来ヘムトランスポーターの結晶構造に基づく基質輸送機構」第15回日本蛋白質科学会年会（徳島市）2015年
- II-10 中村希・直江洋一・土井章弘・杉本宏・城 宜嗣 「結晶構造に基づく病原菌由来ヘムトランスポーターの基質輸送機構の解明」日本結晶学会年会（堺市）2015年

II-11 武田英恵・富樫ひろ美・木村哲就・Grant Mauk・杉本宏・城宜嗣 「ヒト由来鉄還元酵素 Dcytb
の Stopped-Flow 法による機能解析」 第 15 回日本蛋白質科学会年会 (徳島市) 2015 年

II-12 武田英恵・富樫ひろ美・木村哲就・Grant Mauk・杉本宏・城宜嗣 「ヒト由来鉄還元酵素 Dcytb
の反応速度論解析」 第 9 回バイオ関連科学シンポジウム (熊本市) 2015 年

大学院生命理学研究科

ピコバイオロジー専攻

Md. Mahfuzur Rahman : ヘムトランスポーターの構造機能解析

博士前期課程

中村 希 : ヘムトランスポーターの構造機能解析

松本 喜慎 : 一酸化窒素還元酵素と亜硝酸還元酵素との相互作用解析

武田 英恵 : 一酸化窒素還元酵素の分光解析

西田 拓真 : 一酸化窒素還元酵素の無損傷構造解析

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 26~30 年度) 基盤研究(S)
研究課題 一酸化窒素の生体内動態の分子科学
研究代表者 城 宜嗣
- 2 文部科学省 科学研究費補助金 (平成 26~28 年度) 挑戦的萌芽研究
研究課題 生体内の亜酸化窒素の産生制御と消去
研究代表者 城 宜嗣
- 3 文部科学省 科学研究費補助金 (平成 24~27 年度) 若手研究(A)
研究課題 ヒトの鉄イオン輸送システムの作動原理と生体内鉄動態の解明
研究代表者 杉本 宏
- 4 文部科学省 科学研究費補助金 (平成 27~28 年度) 新学術領域研究「動的構造生命」
研究課題 ヘムトランスポーターの動的結晶構造解析
研究代表者 杉本 宏