

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、電子顕微鏡による、脱窒菌の窒素酸化物還元システムの複合体解析を開始した。また、SACLA (X線自由電子レーザー) ならびに時分割赤外分光測定法を用いて、カビ由来一酸化窒素還元酵素 (チトクロム P450_{nor}) の酵素反応中に現れる2つの反応中間体の構造・電子状態解析を行った。第一の反応中間体 (安定) に関しては、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。第二の反応中間体 (数百ミリ秒の寿命) に関しては NO 伸縮振動を 1330cm^{-1} に観測し、配位構造も決定できた。

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、病原菌の膜結合ヘム排出ポンプの結晶構造解析を行った。

発表論文 List of Publications

- I-1 Nango, E., Royant, A.†, Kubo, M.†, Nakane, T., Kimura, T., Wickstrand, C., Tanaka, T., Tono, K., Song, C., Tanaka, R., Arima, T., Yamashita, A., Kobayashi, J., Hosaka, T., Mizohata, E., Nogly, P., Sugahara, M., Nam, D., Dods, R., Nomura, T., Shimamura, T., Im, D., Fujiwara, T., Yamanaka, Y., Jeon, B., Nishizawa, T., Oda, K., Fukuda, M., Andersson, R., Båth, P., Davidsson, J., Matsuoka, S., Kawatake, S., Murata, M., Nureki, O., Owada, S., Kameshima, T., Hatsui, T., Joti, Y., Schertler, G., Yabashi, M., Bondar, A.-N., Standfuss, J., Neutze, R., Iwata, S.: “A Three Dimensional Movie of Structural Changes in Bacteriorhodopsin.” *Science* **354**, 1552-1557. (2016)
- I-2 Nogly, P., Panneels, V., Nelson, G., Gati, C., Kimura, T., Milne, C., Milathianaki, D., Kubo, M., Wu, W., Conrad, C., Coe, J., Bean, R., Zhao, Y., Båth, P., Dods, R., Harimoorthy, R., Beyerlein, K. R., Rheinberger, J., James, D., DePonte, D., Li, C., Sala, L., Williams, G., Hunter, M., Koglin, J. E., Berntsen, P., Nango, E., Iwata, S., Chapman, H. N., Fromme, P., Frank, M., Abela, R., Boutet, S., Barty, A., White, T. A., Weierstall, U., Spence, J., Neutze, R., Schertler, G., Standfuss, J.: “Lipidic Cubic Phase Injector is a Viable Crystal Delivery System for Time-resolved Serial Crystallography.” *Nature Commun.* **7**, 12314 (2016)
- I-3 M. Sakaguchi, T. Kimura, T. Nishida, T. Tosha, Y. Yamaguchi, S. Yanagisawa, G. Ueno, H. Murakami, H. Ago, M. Yamamoto, T. Ogura, Y. Shiro, M. Kubo: “A Nearly On-axis Spectroscopic System for Simultaneously Measuring UV-visible Absorption and X-ray Diffraction in the SPring-8 Structural Genomics Beamline” *J. Synchro. Rad.* **23**, 334-338 (2016)
- I-4 O. Shoji, T. Fujishiro, K. Nishio, Y. Kano, H. Kimoto, S.-C. Chien, H. Onoda, A. Muramatsu, S. Tanaka, A. Hori, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Watanabe: “A Substrate-Binding-Sate Mimic H₂O₂-Dependent Cytochrome P450 Produced by One-point Mutagenesis and Peroxygenation of Non-native Substrate” *Catalysis Science & Technology* **6**, 5806-5811 (2016)
- I-5 E. C. Theil, T. Tosha and R. K. Behera “Solving Biology’s Iron Chemistry Problem with Ferritin Protein Nanocages” *Acc. Chem. Res.*, **49**, 784-791 (2016)
- I-6 翻訳：當舎武彦、“クライトン生物無機化学” Robert R. Crichton 著、19章 バイオミネラルゼーション、塩谷光彦監訳、2016
- I-7 Kubo, M., Nomura, T., Nishida, T., Tosha, T., Sugimoto, H., Kimura, T., Takano, Y., Yamashita, K., Hirata, K., Ueno, G., Ago, H., Yamamoto, M., Shiro, Y.: “Damage-free X-ray Crystallographic Analysis of P450nor in the NO Bound Form using SACLA.” British Biophysical Society 2016 Biennial Meeting, Liverpool, UK, July 7 (2016)
- I-8 Shiro, Y.: “NO Dynamics in Biology: Its Generation and Decomposition” Royal Society Meeting

Inorganic Chemistry, Osaka, Oct. 26 (2016)

- I-9 武田英恵、木村哲就、石井頌子、當舎武彦、城宜嗣、久保稔「ナノリットルフロー時間分解可視・赤外分光法を用いた一酸化窒素還元酵素の短寿命反応過渡種の計測」(ポスター)
第54回日本生物物理学会年会、つくば国際会議場、2016年11月25日
- I-10 Hanae Takeda, Tetsunari Kimura, Shoko Ishii, Takehiko Tosha, Yoshitsugu Shiro, Minoru Kubo
“Kinetic Analysis of the NO Reduction Reaction of Nitric Oxide Reductase Using Nanoliter-Flow Time-Resolved Visible/IR Spectroscopy” 新学術領域「感応性化学種が拓く新物質科学」第4回若手国際シンポジウム、大阪大学、2016年12月12日
- II-1 Naoe, Y., Nakamura, N., Doi, A., Nakamura, H., Shiro, Y., Sugimoto, H.: “Crystal Structure of Bacterial Heme Importer Complex in Inward-facing Conformation” *Nature Commun.* **7**, 13411 (2016)
- II-2 Md. Mahfuzur Rahman, Nozomi Nakamura, Hiro Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Heme binding mechanism of RhuT, a bacterial periplasmic heme-binding protein.” Annual meeting for the course of leading program 2016, University of Hyogo, March, 14-15, 2016 (Oral and Poster)
- II-3 Md. Mahfuzur Rahman, Nozomi Nakamura, Hiro Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro “Structural and functional analysis of a periplasmic heme-binding protein in bacterial heme importer system.” The 16th annual meeting of the Protein Science Society of Japan. Fukuoka International Congress Center, June 7-9, 2016 (poster)
- II-4 Md. Mahfuzur Rahman, Nozomi Nakamura, Hiro Nakamura, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, “Structural and functional analysis of Heme Transport system in Bacteria.” Annual meeting for the course of leading program 2017, University of Hyogo, March 14-15, 2017 (oral and Poster)

大学院生命科学研究科

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

武田英恵 : 一酸化窒素還元酵素の時間分解分光解析

西田拓真 : 一酸化窒素還元酵素の無損傷結晶構造解析

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 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