

## 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 Nakamura-Ogiso, E., Matsuno-Yagi, A., Yoshikawa, S., Yagi, T., and Ohnishi, T. (2008) Iron-sulfur cluster N5 is coordinated by a HXXXCXXCXXXXXC motif in the NuoG subunit of *E. coli* NADH:quinone oxidoreductase (Complex I), *J. Biol. Chem.* **283**, 25979-25987.
- 2 Ohnishi, To., Ohnishi, Ts., Shinzawa-Itoh, K. and Yoshikawa, S. (2008) Functional role of Coenzyme Q in the energy coupling of NADH-CoQ oxidoreductase (Complex I): Stabilization of the semiquinone state with application of inside-positive membrane potential to proteoliposomes, *Biofactor* **32**, 13-22.
- 3 Ikemura, K., Mukai, M., Shimada, H., Tsukihara, T., Yamaguchi, S., Shinzawa-Itoh, K., Yoshikawa, S. and Ogura, T., Red-Excitation Resonance Raman Analysis of the  $n_{Fe=O}$  Mode of Ferryl-Oxo Hemoproteins, *J. Am. Chem. Soc.*, 130, 14384-14385 (2008).
- 4 Hiroshi Aoyama, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, Kunio Hirata, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Takashi Ogura, Shinya Yoshikawa (2009) A Peroxide Bridge between Fe

- and Cu Ions in the O<sub>2</sub> Reduction Site of Fully Oxidized Cytochrome c Oxidase could suppress the Proton Pump, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 2165-2169 (2009).
- 5 Yoshikawa, S.: Reaction mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase, 53<sup>rd</sup> National Meeting of Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology (plenary lecture) (Riccione, Italy, 2008, September 23-26)
  - 6 Yoshikawa, S.: Evidence for H channel proton pump in bovine cytochrome c oxidase, 15<sup>th</sup> European Bioenergetics Conference (invited presentation) (Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 7 望月正雄、富田 勲、村本和優、伊藤・新澤恭子、山下栄樹 (阪大)、月原富武、吉川信也 : シアン化物結合型チトクロム酸化酵素の X 線結晶構造解析、日本生体エネルギー研究会第 34 回討論会 (東京、2008 年)
  - 8 村本和優、太田和宏、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹 (阪大)、月原富武、吉川信也 : 還元型ウシ心筋チトクロム酸化酵素の配位子結合構造に基づく O<sub>2</sub>還元機構、日本生体エネルギー研究会第 34 回討論会 (東京、2008 年)
  - 9 Mochizuki M, Tomita I, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. X-ray crystal structural analysis of cyanide binding cytochrome *c* oxidase (XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
  - 10 Yoshikawa S, Muramoto K, Nakagawa N, Taniguchi M, Kanda K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yamashita E, Tsukihara T. X-ray structure of carbon monoxide at copper site of the dinuclear site of cytochrome *c* oxidase (XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
  - 11 Muramoto K, Maeda K, Takahashi T, Hirata K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yoko-o S, Yamashita E, Aoyama H, Tsukihara T, Yoshikawa S. X-ray structural analysis of Zinc/Cadmium inhibitory site in bovine heart cytochrome *c* oxidase (XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
  - 12 Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Muramoto K, Terada H, Kurauchi T, Tadehara Y, Yamasaki A, Sugimura T, Kurono S, Tsujimoto K, Mizushima T, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. Structural analysis for lipid/protein interactions in bovine heart cytochrome *c* oxidase (XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
  - 13 Suga M, Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Muramoto K, Yamashita E, Yoshikawa S, Tsukihara T. High resolution diffraction experiment of bovine cytochrome *c* oxidase (XXI Congress and

- General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
- 14 Eiki Yamashita, Masato Yoshimura, Mamoru Suzuki, Takashi Kumasaka, Masaki Yamamoto, Shinya Yoshikawa, Tomitake Tsukihara and Atsushi Nakagawa, IPR beamline for macromolecular assemblies at SPring-8 (XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka, Japan, 2008, August 23-31)
  - 15 Suga M, Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Muramoto K, Yamashita E, Yoshikawa S, Tsukihara T. High resolution X-ray diffraction experiment of bovine cytochrome *c* oxidase (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 16 Mochizuki M, Tomita I, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. X-ray crystal structural analysis of cyanide binding cytochrome *c* oxidase (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 17 Aoyama H, Muramoto K, Hirata K, Suga M, Yamashita E, Shinzawa-Itoh K, Tsukihara T, Ogura T, Yoshikawa S. A peroxide bridge between the two metals in the dinuclear center of the fully oxidized cytochrome *c* oxidase (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 18 Muramoto K, Nakagawa N, Taniguchi M, Kanda K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. X-ray structure of carbon monoxide at copper site of the dinuclear site of cytochrome *c* oxidase (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 19 Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Muramoto K, Terada H, Kurauchi T, Tadehara Y, Yamasaki A, Sugimura T, Kurono S, Tsujimoto K, Mizushima T, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. *Structural analyses for lipid/protein interactions in bovine heart cytochrome c oxidase* (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 20 Muramoto K, Maeda K, Takahashi T, Hirata K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yoko-o S, Yamashita E, Aoyama H, Tsukihara T, Yoshikawa S. X-ray structural analysis of zinc/cadmium inhibitory site in bovine heart cytochrome *c* oxidase (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 21 Yukie Katayama, Kunitoshi Shimokata, Makoto Suematsu, Tomitake Tsukihara, Takashi Ogura, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada. Synthesis of functional *Paracoccus Denitrificans* cytochrome *c* oxidase by *Eschericia cali* cell-free coupled transcription/translation system (The 15th European Bioenergetics Conference, Dublin, Ireland, 2008, July 19-24)
  - 22 Kunitoshi Shimokata, Yukie Katayama, Makoto Suematsu, Tomitake Tsukihara, Takashi Ogura,

Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada. Mutations of possible proton-transfer pathways of bovine heart cytochrome *c* oxidase

- 23 柳沢幸子、伊藤・新澤恭子、吉川信也、小倉尚志：ブタ心筋ミトコンドリア中のチトクロム *c* 酸化酵素の共鳴ラマンスペクトル、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 24 片山幸江、末松誠（慶大）、月原富武、吉川信也、島田秀夫：水溶性の複合蛋白質 *Pseudomonas putida* チトクロム P450cam の無細胞系での合成、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 25 前田和範、村本和優、高橋武志、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹（阪大）、月原富武、吉川信也：ウシ心筋チトクロム酸化酵素の Zn/Cd 阻害部位の X 線構造解析、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 26 望月正雄、村本和優、伊藤・新澤恭子、月原富武、吉川信也：チトクロム酸化酵素の結晶の Soret 帯吸収スペクトル測定、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 27 村本和優、太田和宏（阪大）、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹（阪大）、月原富武、吉川信也：チトクロム酸化酵素二核中心に結合した CO, NO, CN<sup>-</sup>の精密構造解析、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 28 菅 倫寛（阪大）、伊藤・新澤恭子、青山 浩（阪大）、村本和優、山下栄樹（阪大）、吉川信也、月原富武：チトクロム酸化酵素の高分解能の精密 X 線結晶構造解析；1.5 Å 程度の X 線回折データで膜蛋白質のプロトン化/脱プロトン化状態の決定方法の開発、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 29 天野聡子、島田 悟、引田理英、伊藤・新澤 恭子、Christoph Gerle、谷 一寿、藤吉好則（京大）、宮澤淳夫（理研）、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、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 30 小笠原由美、望月正雄、盛山純子、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固有成分の分析、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 31 引田理英、森山昌和、小倉尚志、伊藤・新澤恭子、吉川信也：共鳴ラマン分光法によるウシ心筋 NADH-ユビキノン酸化還元酵素の FMN と鉄硫黄クラスターの測定、日本生物物理学会第 46 回年会（福岡、2008 年）
- 32 下方国稔、網中良太、片山幸江、末松誠（慶大）、月原富武、吉川信也、島田秀夫：ウシチトクロム酸化酵素のプロトン輸送経路の変異体解析、日本生体エネルギー研究会第 34 回討論会（東京、2008 年）
- 33 片山幸江、下方国稔（慶大）、末松誠（慶大）、小倉尚志、月原富武、吉川信也、島田秀夫：チトクロム酸化酵素の無細胞発現系の構築、日本生体エネルギー研究会第 34 回討論会（東京、2008 年）

## 大学院生命理学研究科

### 博士前期課程

- 天野聡子 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の構造解析  
小笠原由美 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の化学構造解析  
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  
前田和範 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の X 線構造解析

## 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 19 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 19 年度) 特定領域研究  
研究課題 ミトコンドリアエネルギー変換を駆動する蛋白質複合体の機能の原子機構  
研究代表者 吉川信也
- 3 文部科学省委託業務ターゲットタンパク研究プログラム (平成 19 年度)  
研究課題 ミトコンドリア呼吸の作用機序の全容の解明を目指す高分解能立体構造解析と機能解析  
業務主任者 吉川信也