

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 Kyoko Shinzawa-Itoh, Junko Seiyama, Hirohito Terada, Ryohei Nakatsubo, Kazuki Naoki, Yumiko Nakashima and Shinya Yoshikawa (2010) Bovine heart NADH-ubiquinone oxidoreductase contains one molecule of ubiquinone with ten isoprenoide units as one of the cofactors. *Biochemistry* **49**, 487-492.
- 2 Ohta K, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Yoshikawa S, Tsukihara T (2010) X-ray structure of the NO-bound Cu(B) in bovine cytochrome c oxidase. *Acta Cryst. F*, **66**, 251-253
- 3 Yukie Katayama, Kunitoshi Shimokata, Makoto Suematsu, Takashi Ogura, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada (2010) Cell-free synthesis of cytochrome c oxidase, a multicomponent membrane protein, *J. Bioenergetics and Biomembranes*, **42**, 235-240.
- 4 Miyuki Sakaguchi, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa and Takashi Ogura (2010) A Resonance Raman Band Assignable to the O-O Stretching Mode in the Resting Oxidized State of Bovine Heart Cytochrome c Oxidase, *J. Bioenergetics and Biomembranes*, 2010, **42**, 241-243..

- 5 Kazumasa Muramoto, Kazuhiro Ohta, Kyoko Shinzawa-Itoh, Katsumasa Kanda, Maki Taniguchi, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Bovine cytochrome *c* oxidase structures enable O₂ reduction with minimization of active oxygen species and provide a proton pumping gate, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2010 in press.
- 6 吉川信也 脂質 - 蛋白質相互作用の解析 -ウシ心筋シトクロム酸化酵素を中心として-
雑誌名：(蛋白質 核酸 酵素) 54 巻 2009 年 1827-1836
- 7 Shinya Yoshikawa¹, Kazumasa Muramoto¹, Kyoko Shinzawa-Itoh¹, Masao Mochizuki¹, Tomitake Tsukihara¹, Structures of bovine cytochrome *c* oxidase facilitating the four-electron reduction of O₂ in one-step and the effective proton pump. 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009, Nagoya Japan, Plenary Lecture 2 (July 26, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo,
- 8 Hideo Shimada¹, Kunitoshi Shimokata², Ryota Aminaka¹, Yukie Katayama¹, Kazumasa Muramoto¹, Tomitake Tsukihara¹, Shinya Yoshikawa¹, Mutagenesis studies on the functional roles of possible proton transfer pathways in bovine heart cytochrome *c* oxidase, 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009, Nagoya Japan, Invited Lecture A-08 (July 26, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo, ²World Intec Co., LTD.
- 9 Takashi Ogura¹, Kennichiro Ikemura¹, Izumi Ishigami¹, Minoru Kubo¹, Satoru Nakashima¹, Satoru Yamaguchi¹, Hideo Shimada¹, Kyoko Shinzawa-Itoh¹, Shinya Yoshikawa¹, Structure and dynamics of cytochrome *c* oxidase as studied with resonance Raman spectroscopy. 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009, Nagoya Japan, Invited Lecture A-10 (July 26, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo
- 10 Izumi Ishigami¹, Satoru Nakashima¹, Kyoko Shinzawa-Itoh¹, Shinya Yoshikawa¹, Takashi Ogura¹, Time-resolved resonance Raman study on structural relaxation process of cytochrome *c* oxidase following photolysis of carbonmonoxide. 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009, Nagoya Japan, Poster Presentation P014 (July 26-29, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo
- 11 Miyuki Sakaguchi¹, Kyoko Shinzawa-Itoh¹, Shinya Yoshikawa¹, Hiroshi Fujii², Takashi Ogura¹, A new resonance Raman marker band of cytochrome *c* oxidase. 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009,

- Nagoya Japan, Poster Presentation P016 (July 26-29, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo, ²Okazaki Institute Integrative Bioscience.
- 12 Hiroshi Aoyama¹, Kazumasa Muramoto², Kyoko Shinzawa-Itoh², Kunio Hirata³, Eiki Yamashita³, Tomitake Tsukihara², Shinya Yoshikawa², X-ray structure and function of peroxide bridge between Fe and Cu in the O₂ reduction site of the fully oxidized cytochrome c oxidase. 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry, July 25-30, 2009, Nagoya Japan, P033 (July 26-29, 2009), ¹Graduate School of Pharmaceutical Science, Osaka University, ²Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo, ³Institute for protein Research, Osaka University.
 - 13 Shinya Yoshikawa¹, X-ray structures of CO, NO and Cyanide derivatives of bovine heart cytochrome c oxidase. 54th National Meeting of the Italian Society of Biochemistry and Molecular Biology, Citta Universitaria, Catania Italy, September 23-27, 2009, Invited Lecture in Symposium G (September 25, 2009). ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo,
 - 14 Shinya Yoshikawa¹, Bovine heart cytochrome c oxidase structures facilitating the four-electron reduction of O₂ in one-step and the effective proton pump. Invited Seminar in Department of Physiology and Biophysics, Albert Einstein College of Medicine, January 7, 2010, New York, NY, USA, ¹Picobiology Institute, Graduate School of Life Science, University of Hyogo
 - 15 引田理英・森山昌和・小倉尚志・伊藤-新沢 恭子・吉川信也、共鳴ラマン分光法によるウシ心筋ミトコンドリア呼吸鎖 NADH - ユビキノン酸化還元酵素の FMN と鉄 - イオウクラスターの構造解析、口頭発表、第 36 回生体分子科学討論会（札幌、2009 年 6 月 19 日～20 日）、発表日 6 月 20 日
 - 16 下方国稔・網中良太・末松 誠・月原富武・吉川信也・島田秀夫、ウシ（サブユニット I）/ヒト雑種チトクロム c 酸化酵素の HeLa 細胞発現系：ミトコンドリアにおけるミトコンドリアおよび核由来タンパク質の発現誘導、ポスター発表、第 82 回日本生化学会大会（神戸、2009 年 10 月 21 日～24 日）、発表日 10 月 22 日
 - 17 吉川信也、タンパク質機能の原子レベルの解明 -序論-（シンポジウム、タンパク質機能の原子レベルの解明 -X 線構造、振動分光、分子生物学、理論解析による挑戦-）招待講演、第 47 回日本生物物理学会年会、（徳島、2009 年 10 月 30 日～11 月 1 日）、発表日 10 月 30 日
 - 18 島田秀夫・片山幸江・小倉尚志・月原富武・吉川信也、チトクロム酸化酵素の部位特異的同位体標識（シンポジウム、タンパク質機能の原子レベルの解明 -X 線構造、振動分光、分子生物学、理論解析による挑戦-）招待講演、第 47 回日本生物物理学会年会（徳島、

2009年10月30日～11月1日)、発表日10月30日

- 19 太田和宏・伊藤-新沢 恭子・望月正雄・神田克正・谷口 慎・山下栄樹・月原富武、チトクロム酸化酵素の構造に基づく酸素の一段階4電子還元機構とプロトンの高効率ポンプ機構、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 20 村本和優・稲岡里佳・前田知子・伊藤-新沢 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、アジ化物イオン結合酸化型チトクロム酸化酵素の精密構造解析、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 21 村本和優・原田理恵・前田知子・伊藤-新沢 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、チトクロム酸化酵素のF型中間体の再酸化反応による生成、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 22 網中良太・下方国稔・伊藤真衣・片山幸江・月原富武・吉川信也・島田秀夫、アミノ酸置換によるウシ心筋チトクロム酸化酵素の水素結合ネットワークの機能解析、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 23 阪口美幸・伊藤-新沢 恭子・吉川信也・藤井 浩・小倉尚志、チトクロムc酸化酵素におけるヒドロキシフェルネシルエチル基の共鳴ラマンマーカースペクトル、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 24 石上 泉・中島 聡・伊藤-新沢 恭子・吉川信也・小倉尚志、チトクロム酸化酵素のCO光解離後の構造緩和過程の追跡、口頭発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月31日
- 25 前田和範・村本和優・望月正雄・前田知子・伊藤-新沢 恭子・菅 倫寛・太田和宏・山下栄樹・月原富武・吉川信也、チトクロム酸化酵素休止酸化型の1.4 Å分解能X線構造解析、ポスター発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月30日
- 26 天野聡子・島田 悟・引田理英・伊藤-新沢 恭子・Christoph Gerle ・谷 一寿・藤吉好則・宮澤淳夫・吉川信也、NADH-ユビキノン酸化還元酵素2次元結晶の極低温電子顕微鏡試料の調製、ポスター発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月30日
- 27 引田理英・森山昌和・小倉尚志・伊藤-新沢 恭子・吉川信也、共鳴ラマン分光法によるウシ心筋ミトコンドリア呼吸鎖NADH-ユビキノン酸化還元酵素のFMNと鉄-イオウクラスターの構造解析、ポスター発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、発表日10月30日
- 28 島田 悟・天野聡子・引田理英・伊藤-新沢 恭子・Christoph Gerle ・谷 一寿・藤吉好則・宮澤淳夫・吉川信也、ウシ心筋NADH-ユビキノン酸化還元酵素2次元結晶化、ポスター発表、第47回日本生物物理学会年会(徳島、2009年10月30日～11月1日)、

発表日 10 月 30 日

- 29 三枝 馨・久保 稔・伊藤-新沢 恭子・小倉尚志・吉川信也、 F_0F_1 -ATP 合成酵素の非共鳴ラマン研究、ポスター発表、第 47 回日本生物物理学会年会(徳島、2009 年 10 月 30 日~11 月 1 日)、発表日 11 月 1 日

大学院生命理学研究科

博士後期期課程

天野聡子 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の構造解析

博士前期期課程

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 21 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 21 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 21 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