

## 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を用いて、いくつかの金属蛋白質・金属酵素の結晶構造を明らかにし、さらに分子分光学、分子生物学、生化学的なデータの解析とあわせて、これらの構造と機能の関連を議論している。2種類の脱窒菌 (*Pseudomonas aeruginosa* と *Geobacillus stearothermophilus*) の一酸化窒素還元酵素 (膜結合型蛋白質) の結晶構造解析に成功した。反応活性中心の詳細な構造、ならびに電子伝達経路とプロトン輸送経路などを明らかにし、構造を基盤にして一酸化窒素還元反応機構を議論した。プロトン輸送経路に関しては、分子動力学計算を開始し、酵素の動的構造との関連で議論を開始した。この2つの酵素と、微好気呼吸ならびに好気呼吸の呼吸酵素 (チトクロム酸化酵素) と構造比較する事により、呼吸酵素の分子進化について議論した。多くの生物でセンサー蛋白質として機能している二成分情報伝達系 (ヒスチジンキナーゼ/レスポンスレギュレーター複合体) の結晶構造を報告した。また、いくつかのGFP様蛍光タンパク質の構造解析に成功し、クロモフォア近傍の詳細な構造と蛍光特性 (色、強度など) との関連を議論した。

## II 生理活性天然物の生合成酵素群の構造と反応機構解析

### Structure-Function Relationship of Enzymes Involved in Bioactive Natural Products

永野真吾

Nagano, S.

生理活性物質の生合成と代謝に関わる酵素の構造機能解析を行った。放線菌においてインドロカルバゾール系化合物に関わる酵素 StaP の結晶構造に基づいて、量子化学計算と変異体の活性測定を基盤に、その反応機構を議論した。哺乳動物におけるトリプトファン代謝に関わるヘムを含む二原子酸素添加酵素は2種類知られているが、その1つであるトリプトファン 2,3 ジオキシゲナーゼについて、いくつかの変異体を調製し、活性測定を行い、酵素反応におけるいくつかのアミノ酸残基の役割について議論した。また、微生物

によるニトリル合成の鍵酵素である、アルドキシム合成酵素の結晶構造解析に成功し、その反応機構についても議論した。

## 発表論文 List of Publications

- I-1 A. Kikuchi (理研), E. Fukumura (阪大), S. Karasawa (理研), H. Mizuno (理研), A. Miyawaki (理研), Y. Shiro: “Structural Characterization of a Thiazoline-containing Chromophore in an Orange Fluorescent Protein, Monomeric Kusabira Orange” *Biochemistry*, **47**, 11573-11580 (2008)
- I-2 Y. Harada (東大), M. Taguchi (理研), Y. Miyajima (理研), T. Tokushima (理研), Y. Horikawa (理研), A. Chainani (理研), **Y. Shiro**, Y. Senba (理研), H. Ohashi (理研), H. Fukuyama (東理大), S. Shin (理研): “Ligand Energy Controls the Heme-Fe Valence in Aqueous Myoglobins” *J. Phys. Soc. Jpn.* **78**, 044802-1 - 5 (2009)
- I-3 A. Kikuchi (理研), E. Fukumura (阪大), S. Karasawa (理研), **Y. Shiro**, A. Miyawaki (理研): “Crystal Structure of a New Cyan Fluorescent Protein and Its Hue-shifted Variants” *Biochemistry* **48**, 5276-5283 (2009)
- I-4 Y. Ito (横浜市大), S. Nakagawa (横浜市大), A. Komagata (横浜市大), M. Ikeda-Saito (東北大), Y. Shiro, H. Nakamura (理研): “Heme-dependent Autophosphorylation of a Heme Sensor Kinase, ChrS from *Corynebacterium diphtheriae* Reconstituted in Proteoliposomes” *FEBS Lett.* **583**, 2244-2248 (2009)
- I-5 S. Yamada (理研), H. Sugimoto (理研), M. Kobayashi, A. Ohno (理研), H. Nakamura (理研), Y. Shiro: “Structure of PAS-linked Histidine Kinase and the Response Regulator Complex” *Structure* **17**, 1333-1344 (2009)
- II-1 E. Fukumura (阪大), H. Sugimoto (理研), Y. Misumi, T. Ogura, Y. Shiro: “Cooperative Binding of L-Trp to Human Tryptophan 2,3-Dioxygenase: Resonance Raman Spectroscopic Analysis” *J. Biochem.* **145**, 505-515 (2009)
- II-2 Y. Wang, H. Chen, M. Makino (JASRI), Y. Shiro, S. Nagano, S. Asamizu (富山県大), H. Onaka (富山県大), S. Sason: “Theoretical and Experimental Studies of the Conversion of Chromopyrrolic Acid to an Antitumor Derivative by Cytochrome P450 StaP: The Biological Role of Water Molecules” *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 6748-6762 (2009)
- II-3 H. Sawai (岡崎統合バイオ), H. Sugimoto (理研), Y. Kato (富山県大), Y. Asano (富山県大), Y. Shiro, S. Aono (岡崎統合バイオ): “X-ray Crystal Structure of the Michaelis Complex of Aldoxime Dehydratase” *J. Biol. Chem.* **284**, 32089-32096 (2009)

## 大学院生命理学研究科

博士前期課程

なし

## 科学研究費補助金等

文部科学省 科学研究費補助金（平成21年度）基盤研究(A) 課題番号: 21245041

研究課題 呼吸酵素における、酸素還元と一酸化窒素還元の機能変換と分子進化

研究代表者 城 宜嗣