

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 Kazumasa Muramoto, Kazuhiro Ohta, Kyoko Shinzawa-Itoh, Katsumasa Kanda, Maki Taniguchi, Hiroyuki Nabekura, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara and Shinya Yoshikawa, Bovine cytochrome *c* oxidase structures enable O₂ reduction with minimization of reactive oxygens and provide a proton-pumping gate, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 107, 7740-7745(2010).
- 2 Miyuki Sakaguchi, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa and Takashi Ogura, 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, 42, 241-243(2010).
- 3 Yukie Katayama, Kunitoshi Shimokata, Makoto Suematsu, Takashi Ogura, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada, Cell-free synthesis of cytochrome *c* oxidase, a multicomponent membrane protein, J. Bioenergetics and Biomembranes, 42,

- 235-240(2010).
- 4 Kazuhiko Ohta, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Shinya Yoshikawa and Tomitake Tsukihara, X-ray structure of the NO-bound Cu(B) in bovine cytochrome c oxidase, *Acta Cryst. F*, 66 , 251-253(2010).
 - 5 Kyoko Shinzawa-Itoh, Junko Seiyama, Hirohito Terada, Ryohei Nakatsubo, Kazuki Naoki, Yumiko Nakashima and Shinya Yoshikawa, Bovine heart NADH-ubiquinone oxidoreductase contains one molecule of ubiquinone with ten isoprenoide units as one of the cofactors, *Biochemistry*, 49 , 487-492(2010).
 - 6 Shinya Yoshikawa, The O₂ reduction and Proton Pumping Gate Mechanisms of Bovine Heart Cytochrome *c* Oxidase. Lecture Series of European Association of Structural Biology of Membrane Proteins, 2010年5月10日, Toulouse (University of Toulouse), France (口頭)
 - 7 Shinya Yoshikawa, The O₂ reduction and Proton Pumping Gate Mechanisms of Bovine Heart Cytochrome *c* Oxidase. Workshop on Allosteric cooperativity in soluble, membrane bound hemoprotein and related membrane systems, organized by S. Papa, M. Brunori, T. Yonetani and S. Yoshikawa, 2010年5月31日, Bari (University of Bari), Italy (口頭)
 - 8 藤澤秀徳・村本和優・伊藤-新澤 恭子・前田友子・山下栄樹・吉川信也・月原富武、還元型ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能X線構造解析. 第10回日本蛋白質科学会年会、2010年6月17日、札幌コンベンションセンター (札幌) (ポスター)
 - 9 村本和優・太田和宏・伊藤-新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、ウシ心筋チトクロム酸化酵素の酸素還元反応とプロトンポンプゲート機構. 第10回日本蛋白質科学会年会、2010年6月18日、札幌コンベンションセンター (札幌) (ポスター)
 - 10 村本和優・太田和宏・伊藤-新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、ウシチトクロム酸化酵素のヘム・銅部位におけるNO、COの光化学的結合解離構造. 第10回日本蛋白質科学会年会、2010年6月18日、札幌コンベンションセンター (札幌) (ポスター)
 - 11 菅 倫寛・矢野直峰・村本和優・山下栄樹・望月正雄・前田和範・伊藤-新澤 恭子・吉川信也・月原富武、チトクロム酸化酵素の水素位置決定を目的としたX線結晶構造解析. 第10回日本蛋白質科学会年会、2010年6月18日、札幌コンベンションセンター (札幌) (ポスター)
 - 12 Kazumasa Muramoto, Kazuhiro Ohta, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Photo-dependent binding structures of CO and NO on the heme-copper site in bovine cytochrome c oxidase. The 16th European Bioenergetics Conference, 2010年7月17日, Warsaw, Poland (ポスター)
 - 13 S. Tsuyoshi Ohnishi, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Tomoko Ohnishi, The

- O₂ reduction and proton pumping gate mechanisms of bovine heart cytochrome c oxidase. The 16th European Bioenergetics Conference, 2010年7月17日, Warsaw, Poland (ポスター)
- 14 Ryohta Aminaka, Kunitoshi Shimokata, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada, Mutagenesis studies on D-pathway function of bovine heart cytochrome c oxidase. 16th European Bioenergetics Conference, 2010年 7月21日, Warsaw, Poland (ポスター)
 - 15 久保 稔・山口 悟・望月正雄・吉川信也・小倉尚志・中島 聡、高輝度フェムト秒レーザーを用いた時間分解赤外分光装置の開発. 分子科学討論会2010、2010年9月14日～17日 大阪大学(豊中) (口頭)
 - 16 Minoru Kubo, Satoru Yamaguchi, Masao Mochizuki, Shinua Yoshikawa, Takashi Ogura and Satoru Nakashima, Femtosecond-Laser-Based Highly-Sensitive Time-Resolved IR Spectrometer for Studying Enzyme Reactions under Physiological Conditions. 第48回日本生物物理学会年会、2010年9月20日～22日、東北大学(仙台) (ポスター)
 - 17 Miyuki Sakaguchi, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa and Takashi Ogura, Resonance Raman Evidence for Heme-heme interaction in Cytochrome c Oxidase. 第48回日本生物物理学会年会、2010年9月20日～22日、東北大学(仙台) (口頭・ポスター)
 - 18 Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Reaction mechanism of cytochrome c oxidase based on the O₂ analogues-bound structures. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月20日、東北大学(仙台) (ポスター)
 - 19 Naomine Yano, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Masao Mochizuki, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, High resolution X-ray structural analysis of cytochrome c oxidase to clarify the proton pumping mechanism at hydrogen atom level. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月20日、東北大学(仙台) (ポスター)
 - 20 Tomitake Tsukihara, Michihiro Suga, Kazumasa Muramoto, Kyoko Shinzawa-Itoh, Tomoko Maeda, Eiki Yamashita, Shinya Yoshikawa, An X-ray structural evaluation of the possibility of chloride binding to the O₂ reduction site of bovine heart cytochrome c oxidase. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月20日、東北大学(仙台) (ポスター)
 - 21 Izumi Ishigami, Takeshi Nishigaki, Satoru Nakashima, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Takashi Ogura, Structural Relaxation of Cytochrome c Oxidase after CO Photolysis: Assignment of a Heme peripheral Raman Mode. 日本生物物理学会第48回年

- 会、2010年9月20日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 22 Miyuki Sakaguchi, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Takashi Ogura,
Resonance Raman Evidence for the Heme-heme interaction in Cytochrome c Oxidase.
日本生物物理学会第48回年会、2010年9月20日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 23 Minoru Kubo, Satoru Yamaguchi, Masao Mochizuki, Shinya Yoshikawa, Takashi
Ogura, Satoru Nakashima, Femtosecond-Laser-Based Highly-Sensitive
Time-Resolved IR Spectrometer for Studying Enzyme Reaction Under Physiological
Conditions. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月20日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 24 Yukie Katayama, Miyuki Yoshiya, Keisuke Sakurai and Hideo Shimada,
Characterization of histidine-tagged cytochrome P450cam and its synthesis in a
cell-free system. 第48回日本生物物理学会、2010年9月21日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 25 Hidenori Fujisawa, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh,
Kazunori Maeda, Masao Mochizuki, Michihiro Suga, Kazuhiro Ohta, Eiki Yajashita,
Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Redox dependent structural change of
cytochrome c oxidase at 1.4 Å resolution. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月21日
東北大学（仙台）（ポスター）
- 26 Rika Kito, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki
Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, X-ray structural analysis of
catalytic P-intermediate in bovine cytochrome c oxidase. 日本生物物理学会第48回年会、
2010年9月21日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 27 Shinya Yoshikawa, Kazumasa Muramoto, Ryota Nakabayashi, Tomoko Maeda, Kyoko
Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, X-ray structural analysis of
catalytic O-intermediate in bovine cytochrome c oxidase. 日本生物物理学会第48回年会、
2010年9月21日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 28 Kazumasa Muramoto, Kazuhiro Ohta, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki
Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Photo-dependent binding
structures of CO and NO on the heme-copper site in bovine cytochrome c oxidase. 日本
生物物理学会第48回年会、2010年9月21日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 29 Kaoru Mieda, Minoru Kubo, Kyoko Shinzawa-Itoh, Takashi Ogura, Shinya Yoshikawa,
Non-Resonance Raman Evidence for Conformational Changes in the Fo Subunits by
Substrate Binding in Bovine FoF1-ATP Synthase. 日本生物物理学会第48回年会、2010
年9月21日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 30 Ryohta Aminaka, Kunitoshi Shimokata, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake
Tsukihara, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada, Proton pumping pathway of

- bovine heart cytochrome c oxidase. 第48回日本生物物理学会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 31 Ai Sasaki, Kazumasa Muramoto, Tomoko Maeda, Kyoko Shinzawa-Itoh, Eiki Yamashita, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, X-ray structural analysis of catalytic F⁻intermediate in bovine cytochrome c oxidase. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 32 Ryota Aminaka, Kunitoshi Shimokawa, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa, Hideo Shimada, Proton pumping pathway of bovine heart cytochrome c oxidase. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 33 Satoru Shimada, Satoko Amano, Masahide Hikita, Kyoko Shinzawa-Itoh, Christoph Gerle, Kazutoshi Tani, Yoshinori Fujiyoshi, Atsuo Miyazawa, Shinya Yoshikawa, The integrity of the bovine heart NADH-ubiquinone oxidoreductase responsible for the quality of the 2D crystals. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 34 Satoko Amano, Satoru Shimada, Masahide Hikita, Kyoko Shinzawa-Itoh, Christoph Gerle, Yoshinori Fujiyoshi, Atsuo Miyazawa, Shinya Yoshikawa, The effects of detergents for quality of 2D crystal of bovine heart NADH-ubiquinone oxidoreductase. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 35 Masahide Hikita, Takashi Ogura, Kyoko Shinzawa-Itoh, Shinya Yoshikawa, Resonance Raman spectrum changes of FMN and iron-sulfur clusters of NADH-ubiquinone oxidoreductase upon redox states. 日本生物物理学会第48回年会、2010年9月22日、東北大学（仙台）（ポスター）
- 36 村本和優・太田和宏・木登梨佳・佐々木歩惟・前田友子・伊藤-新澤 恭子・山下栄樹・月原富武・吉川信也、チトクロム酸化酵素のO₂還元反応機構. 日本生体エネルギー研究会第36回討論会、2010年11月19日大阪大学（大阪）（口頭）
- 37 矢野直峰・村本和優・藤澤秀徳・前田友子・伊藤-新澤 恭子・望月正雄・山下栄樹・月原富武・吉川信也、ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能X線構造解析. 日本生体エネルギー研究会第36回討論会、2010年11月19日、大阪大学（大阪）（口頭）
- 38 Ryohta Aminaka, Kunitoshi Shimokata, Mai Itoh, Yukie Katayama, Tomitake Tsukihara, Shinya Yoshikawa and Hideo Shimada, Mutagenesis analysis of a putative pathway for water forming proton in bovine heart cytochrome c oxidase. 生体エネルギー研究会第36回討論会、2010年11月20日、大阪大学（大阪）（ポスター）
- 39 Shinya Yoshikawa, The O₂ reduction and Proton Pumping Gate Mechanisms of

- Bovine Heart Cytochrome c Oxidase. Lecture Series of European Association of Structural Biology of Membrane Proteins, 2011年1月17日, Paris (University of Paris), France (口頭)
- 40 Shinya Yoshikawa, The O₂ reduction and Proton Pumping Gate Mechanisms of Bovine Heart Cytochrome c Oxidase. Lecture Series of European Association of Structural Biology of Membrane Proteins, 2011年1月19日, Grenoble (University Joseph Fourier), France (口頭)
- 41 Shinya Yoshikawa, Bovine cytochrome oxidase structures enable molecular oxygen reduction without formation of active oxygen species, providing a proton pumping gate. 55th Annual meeting of USA Biophysical Society, 2011年3月6日, Baltimore, USA (ポスター)
- 42 Shinya Yoshikawa, Proton pumping mechanism of cytochrome c oxidase. Seminar series at Department of physiology and Biophysics, Albert Einstein College of Medicine, 2011年3月10日, New York (Albert Einstein College of Medicine), USA (口頭)
- 43 石上 泉・西垣 武・中島 聡・伊藤-新澤 恭子・吉川信也・小倉尚志、時間分解共鳴ラマン分光法によるCO光解離後のチトクロムc 酸化酵素の構造緩和過程の追跡. 日本化学会第91春季年会、2011年3月27日、神奈川県 (横浜市) (口頭)
- 44 野村高志・柳澤幸子・新澤-伊藤 恭子・吉川信也・小倉尚志、リン脂質小胞に再構成したチトクロムc酸化酵素の共鳴ラマン分光. 日本化学会第91春季年会、2011年3月27日、神奈川県 (横浜市) (口頭)

大学院生命科学研究科

博士後期課程

- 天野聡子 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の構造解析
- 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
- 前田晋太郎 : ミトコンドリア呼吸鎖 F₀F₁ATPase の構造解析
- 矢野直峰 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の高分解能構造解析

博士前期課程

- 三枝 馨 : ミトコンドリア呼吸鎖 F₀F₁ATPase の非共鳴ラマン分光解析
- 島田 悟 : ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の化学構造解析
- 木登梨佳 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の反応中間体の構造解析
- 佐々木歩唯 : ウシ心筋チトクロム酸化酵素の反応中間体の構造解析

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 22 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 22 年度）基盤研究 A
研究課題 哺乳動物ミトコンドリア呼吸機構の原子レベルの解明
研究代表者 吉川信也
- 3 文部科学省科学研究費補助金（平成 22 年度）基盤研究 B
研究課題 ヘム・銅酸素還元酵素のエネルギー変換機構解明のための構造・機能解析
研究代表者 村本和優
- 4 文部科学省科学研究費補助金（平成 22 年度）基盤研究 C
研究課題 ミトコンドリア呼吸鎖複合体 I の反応機構の解明
研究代表者 伊藤恭子
5. 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 22 年度）
研究課題 ATP 生産関連膜タンパク質系の構造と機能解析(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