

## 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。特に、近年では、地球上の窒素循環において重要な働きをしている脱窒菌の一酸化窒素還元酵素（膜結合型蛋白質）の構造機能解析において世界的な成果をあげている。本年度は、*Pseudomonas aeruginosa*の一酸化窒素産生酵素（亜硝酸還元酵素）と一酸化窒素消去酵素（一酸化窒素還元酵素）の複合体の構造機能解析に成功した。この結果を基に、この2つの脱窒系酵素が相互作用することにより、細胞毒性の高い一酸化窒素NOを細胞内に拡散させることなく消去していることを提案した。また、病原菌由来キノールを電子供与体とする一酸化窒素還元酵素の発現系構築と単離精製に成功し、結晶化を開始した。

## 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.

微量金属元素の細胞内への吸収、運搬、その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ために、これらの膜タンパク質の立体構造解析をめざしている。本年度は、病原菌が感染ホストからヘム鉄を奪取する際にヘムを細胞内に取り込むヘムトランスポーター（HT）の結晶構造解析（約3.2 Å分解能）に成功した。さらに、HTへヘムを運搬するタンパク質に関して、2分子ヘム結合型、1分子ヘム結合型、ヘム非結合型の構造解析にも成功した。これらの構造情報を基に、ヘム輸送の分子機構に関して議論した。

## 発表論文 List of Publications

- I-1 S. Yano, H. Ishikawa, M. Mizuno, H. Nakamura, Y. Shiro, Y. Mizutani: "Ultraviolet Resonance Raman Observation of the Structural Dynamics of FixL on Ligand Recognition" *J. Phys. Chem. B*, **117**, 15786-15791 (2013)
- I-2 N. Sato, S. Ishii, H. Sugimoto, T. Hino, Y. Fukumori, Y. Sako, Y. Shiro, T. Tosha: "Structures of Reduced and Ligand-Bound Nitric Oxide Reductase Provide Insights into Functional Differences in Respiratory Enzymes" *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* **82**, 1258-1271 (2014)
- I-3 T. Tosha, Y. Shiro: "Crystal Structures of Nitric Oxide Reductases Provide Key Insights into Functional Conversion of Respiratory Enzymes" *IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) Life* **65**, 217-226 (2013)
- I-4 日野智也・松本悠史・當舎武彦・杉本 宏・永野真吾・城 宜嗣: 「一酸化窒素還元酵素の結晶構造と呼吸酵素の分子進化」化学と生物、10月号 (2013)
- II-1 S. Yanagisawa, M. Hara, H. Sugimoto, Y. Shiro, T. Ogura: "Resonance Raman Study on Indoleamine 2,3-Dioxygenase: Control of Reactivity by Substrate-binding" *Chem. Phys.* **419**, 178-183 (2013)
- II-2 A. Onoda, Y. Okamoto, H. Sugimoto, Y. Takano, S. Hirota, D. Kurtz, Y. Shiro, T. Hayashi: "Crystal Structure, Exogenous Ligand Binding and Redox Properties of an Engineered Diiron Active Site in a Bacterial Hemerythrin" *Chem. Comm.* **50**, 3421-3423 (2014)

## 大学院生命理学研究科

博士前期課程

寺坂瑛里奈: 一酸化窒素還元酵素と亜硝酸還元酵素の複合体の構造機能解析

石井頌子: 一酸化窒素還元酵素と一酸化窒素との相互作用解析

## 科学研究費補助金等

文部科学省 科学研究費補助金 (平成22~26年度) 新学術領域研究「分子活性化」

課題番号: 22105012

研究課題 生体反応場の高特異性の解析と機能制御

研究代表者 城 宜嗣