

Protein Crystallography

生体物質構造学 I

I 微生物の細胞機能を維持するタンパク質群のX線構造化学

X-ray Structural Chemistry of Proteins in Various Metabolic Systems of Microorganisms

西川幸志・柴田直樹・樋口芳樹
Nishikawa, K., Shibata, N., Higuchi, Y.

微生物の細胞内では、酵素や電子伝達タンパク質など多くの生体高分子が重要な化学反応の制御に関与している。膜内外のプロトン濃度の調節や還元力の維持などはある種の微生物にとっては必須の生体内システムである。硫酸還元菌では[NiFe]ヒドロゲナーゼ、ヒドロゲナーゼ成熟化因子、シトクロム類、硫酸塩・亜硫酸塩還元系酵素、フラビンタンパク質などの分子が水素代謝に関与している。我々はこれらの生体高分子のX線結晶構造解析を行い、その生化学的機能・分子間相互作用・電子伝達機構などの解明を目指している。特にヒドロゲナーゼについては、その水素活性化の分子機構の解明に近づいており、中性子結晶解析法による研究も進めている。また、一般的にヒドロゲナーゼは、酸素によりその機能を失う。我々は、酸素耐性をもつヒドロゲナーゼの構造を解明し、酸素耐性の構造基盤を明らかにしてきた。さらに、水素の還元力を利用してNAD⁺-NADH変換機能をもつ酵素や翻訳システムの制御に関わる酵素の構造生物学も進めている。

ビタミンB₁₂補酵素 (Co原子含有) の関与するジオールデヒドラターゼやエタノールアミンアンモニアリアーゼの構造解析を行い、酵素の触媒するラジカル反応機構を提唱している。他にナイロンオリゴマー分解酵素やデカルボキシラーゼ、フェレドキシン-NADP還元酵素、マルチ銅酸化酵素、抗生物質の生産など医薬品合成に応用できるアミノ酸2量体合成酵素などについても高精度な構造化学的研究を展開している。

外部からの様々な刺激・ストレス・外敵に応答してそれに対応、あるいは制御するためのシステムは生物が生命を維持するためには重要である。酸化ストレス、金属イオンの細胞外排出に関わるマルチ銅酵素や、気体分子に反応してDNAの転写制御に関わるタンパク質群のX線構造化学的研究を進めている。

II 高等生物細胞のタンパク質間相互作用のX線構造生物学

X-ray Structural Biology of Protein-protein Interactions in the Cells of Higher Organisms

柴田直樹・西川幸志・樋口芳樹
Shibata, N., Nishikawa, K., Higuchi, Y.

生物の細胞内、特に脳神経細胞内では様々な制御・調節のシステムが互いに高度な連携をとりながら機能している。これらのシステムに関与しているタンパク質群の構造生物学的研究は現在発展途上である。本研究室では脳・神経系で特異的に発現され、神経発生の多様性等に関与していると考えられているプロトカドヘリンのX線構造生物学を展開し、それらの分子構造に基づいて機能をより深く理解することをめざしている。

細胞は外界の変化に反応して代謝や増殖を調節するためのシグナル伝達機構をもっている。本研究室ではWntシグナルや関連する伝達経路のうち、特にβ-カテニン経路に関わるAxin, Dishevelled, Coiled-coil DIXタンパク質がもつDIXドメインや、新規の癌細胞増殖シグナル軸であるDKK-CKAP4経路に関して、結晶解析を通して、その分子間相互作用における構造基盤の解明を目指している。またこれに関連する転写因子として、軟骨形成に関わるSox9のDNA認識機構についても研究を行っている。

発表論文 List of Publications

- I-1 T. Imanishi, K. Nishikawa, M. Taketa, K. Higuchi, H. Tai, S. Hirota, H. Hojo, T. Kawakami, K. Hataguchi, K. Matsumoto, H. Ogata, Y. Higuchi, Structural and spectroscopic characterization of CO inhibition of [NiFe]-hydrogenase from *Citrobacter* sp. S-77. *Acta Cryst. F78*, 66-74 (2022)
- I-2 T. Toraya, T. Tobimatsu, K. Mori, M. Yamanishi, N. Shibata, Coenzyme B₁₂-dependent eliminases: Diol and glycerol dehydratases and ethanolamine ammonia-lyase. *Methods in enzymology*, **668**, 181-242 (2022)
- I-3 T. Toraya, T. Tobimatsu, N. Shibata, K. Mori, Reactivating chaperones for coenzyme B₁₂-dependent diol and glycerol dehydratases and ethanolamine ammonia-lyase. *Methods in enzymology*, **668**, 243-284 (2022)
- I-4 樋口芳樹: ヒドロゲナーゼによる水素合成・分解についての構造化学, ポリマーフロンティア 21 2021/6/7 オンライン開催【口頭発表】
- I-5 玉田太郎, 廣本武史, 西川幸志, 平野優, 日下勝弘, Leighton Coates, 樋口芳樹: *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F 株由来[NiFe]-ヒドロゲナーゼの中性子結晶構造解析, 日本蛋白質科学会年会 2021/6/16 オンライン開催【口頭発表】
- I-6 柴田直樹, 樋口芳樹, 虎谷哲夫: ラジカル B₁₂ 酵素ジオールデヒドラターゼ-アデノシルメチルコバラミン複合体の立体構造, 第 463 回ビタミン B 研究協議会 2021/7/3 オンライン開催【口頭発表】
- I-7 樋口芳樹: 水素合成・分解酵素の構造生物学, 令和 3 年度兵庫県高等学校教育研究会生物部会 講演会 2021/7/8 姫路市立総合教育センター クレアホール【口頭発表】
- I-8 柴田直樹, 樋口芳樹, 虎谷哲夫: ラジカル B₁₂ 酵素エタノールアミンアンモニアリアーゼ-アデノシルメチルコバラミン複合体の立体構造, 第 464 回ビタミン B 研究協議会 2021/8/27 オンライン開催【口頭発表】
- I-9 樋口芳樹: [NiFe]ヒドロゲナーゼの構造化学, 水素エネルギー共同研究センター研究発表会 2021/8/31 オンライン開催【口頭発表】
- I-10 樋口芳樹: [NiFe]ヒドロゲナーゼの分子機能の構造基盤, CBI 学会 2021 年大会 (第 2 回量子構造生命科学研究シンポジウム) 2021/10/27 オンライン開催【口頭発表】
- I-11 樋口芳樹: 水素社会の実現を目指して, バイオインダストリー協会・発酵と代謝研究会 2021/11/22 オンライン開催【口頭発表】
- I-12 K. Nishikawa, Y. Nakagawa, S. Inoue, T. Chuji, S. Nakashima, Y. Shigeta, K. Fukutani and Y. Higuchi: New assay method for the enzymatic reaction with gaseous substrates by Raman spectroscopy, Materials Research Meeting 2021 2021/12/13 PACIFICO Yokohama, Yokohama【口頭発表】
- II-1 C. Xie, H. Shimoyama, M. Yamanaka, S. Nagao, H. Komori, N. Shibata, Y. Higuchi, Y. Shigeta, S. Hirota, Experimental and theoretical study on converting myoglobin into a stable domain-swapped dimer by utilizing a tight hydrogen bond network at the hinge region, *RSC Adv.*, **11**, 37604-37611 (2021)
- II-2 柴田直樹: がん細胞増殖シグナルを活性化する Cytoskeleton-associated protein 4 細胞外領域の構造解析, 第 3 回ピコバイオロジー研究会 2022/3/14 オンライン開催【ポスター】
- II-3 長尾聡, 井戸本彩花, 須田綾香, 小林紀, 柴田直樹, 樋口芳樹, 廣田俊: ミオグロビンにおける安定性向上および金属結合性付与ドメインスワップ二量体の分子設計, 第 15 回バイオ関連化学シンポジウム 2021/9/8-10 オンライン開催【口頭発表】
- II-4 C. Xie, H. Shimoyama, M. Yamanaka, S. Nagao, H. Komori, N. Shibata, Y. Higuchi, Y. Shigeta, S. Hirota: Experimental and theoretical study on converting myoglobin into a stable domain-swapped dimer by utilizing a tight hydrogen bond network at the hinge region, 日本化学会春期年会 2022/03/25, オンライン開催【口頭発表】

科学研究費補助金等

- 科学研究費補助金 (令和 3 年度～令和 5 年度) 基盤研究(B) (一般) 課題番号: 21H02420
研究課題: Wnt シグナル因子が関わる新規癌細胞増殖シグナル活性化と阻害抗体の構造基盤

- 研究代表者 柴田直樹
2. 科学研究費補助金（令和2年度～令和4年度）基盤研究(C)（一般） 課題番号：20K06511
研究課題：[NiFe]ヒドロゲナーゼの酸化に伴う鉄硫黄クラスターの構造変化に関する研究
研究代表者 西川幸志
 3. 科学研究費補助金（平成30～令和4年度）新学術領域研究 課題番号：18H05516
研究課題：水素－電子カップリング機能の創出と機構解明
研究分担者 樋口芳樹
 4. 科学研究費補助金（令和元年度～令和5年度）基盤研究(A)（一般） 課題番号：19H00984
研究課題：ヒドロゲナーゼの触媒反応機構と高効率プロトン伝達機構の構造基盤解明
研究代表者 樋口芳樹