

Supramolecular Structural Biology

細胞膜超分子複合体 機能解析学

I 生体金属輸送システムの構造生物学研究

Structural Biology of Proteins in Metal Transport System

當舎武彦・杉本 宏
Tosha, T., Sugimoto, H.

病原微生物が感染後に増殖していくためには鉄イオンの獲得が必須であり、感染先である宿主（ヒト）の体内に含まれるヒト赤血球ヘモグロビンからヘム（鉄-ポルフィリン錯体）の状態では鉄を獲得することが知られている。鉄取り込みを阻害すれば感染防御の第一線として機能を果たすと期待されることから、鉄イオンやヘムの輸送に関与するタンパク質分子は新たな抗生物質やワクチン開発のターゲットとして注目されてきた。本研究室では病原菌の細胞膜で発現している ABC 型ヘムトランスポーターについて、X 線結晶解析や低温電子顕微鏡による高分解能立体構造解析に取り組んでいる。トランスポーター試料が安定化する界面活性剤を見出しており、SPring-8 で稼働している低温電子顕微鏡を利用して画像データを収集し、構造解析を進めてきた。ATP あるいはそのアナログ化合物結合型の構造決定を行うことで、タンパク質の大規模なコンフォメーションの変化のメカニズムが原子レベルで明らかになった。今後はさらに多状態での構造解析とそれを基盤にした機能解析を進展させることで、ヘム輸送サイクルの分子メカニズムの詳細を明らかにする計画である。

II 金属タンパク質の構造機能解析

Structural and Functional Studies of Metalloproteins

當舎武彦・杉本 宏
Tosha, T., Sugimoto, H.

タンパク質の多くは、鉄、亜鉛、銅、ニッケルなどの金属イオンを活性部位に補因子として結合し、さまざまな生体内反応の触媒などの機能を発揮している。この金属タンパク質は温和な条件下で高選択的かつ高効率的に触媒反応を行うことができるため、そのメカニズムが注目されてきた。本研究室では、大型放射光施設 SPring-8 や X 線自由電子レーザー施設 SACLA を利用し、いくつかの金属タンパク質の結晶構造解析や時間分解構造解析に取り組んでおり、得られた構造情報を基盤に分光計測や生化学的解析を組み合わせることで、金属タンパク質の反応機構の解明を目指している。本年度は、嫌気条件下での時間分解構造解析を見据えた基盤技術開発や、光解離性ケージド化合物の光反応を利用した金属酵素反応中間体の分光・構造解析を進めた。SACLA での構造解析の手法は今後も引き続き様々なタンパク質の解析に応用する。

発表論文 List of publications

- I-1 K. Suzuki, J. K. Stanfield, K. Omura, Y. Shisaka, S. Ariyasu, C. Kasai, Y. Aiba, H. Sugimoto, O. Shoji: A Compound I Mimic Reveals the Transient Active Species of a Cytochrome P450 Enzyme: Insight into the Stereoselectivity of P450-Catalysed Oxidations, *Angew. Chem. Int. Ed.* **62**, e202215706 (2023) (学術論文)
- I-2 M. Lučić, M. T. Wilson, T. Tosha, H. Sugimoto, A. Shilova, D. Axford, R. L. Owen, M. A. Hough, J. A. R. Worrall: Serial Femtosecond Crystallography Reveals the Role of Water in the One- or Two-Electron Redox Chemistry of Compound I in the Catalytic Cycle of the B-Type Dye-Decolorizing Peroxidase DtpB, *ACS Catal.* **12**, 13349 (2022) (学術論文)
- I-3 T. Moreno-Chicano, L. M. Carey, D. Axford, J. H. Beale, R. B. Doak, H. M. E. Duyvesteyn, A. Ebrahim, R. W. Henning, D. C. F. Monteiro, D. A. Myles, S. Owada, D. A. Sherrell, M. L. Straw, V. Srajer, H. Sugimoto, K. Tono, T. Tosha, I. Tews, M. Trebbin, R. W. Strange, K. L. Weiss, J. A. R. Worrall, F. Meilleur, R. L. Owen, R. A. Ghiladi, M. A. Hough: Complementarity of neutron, XFEL and synchrotron crystallography for defining the structures of metalloenzymes at room temperature, *IUCrJ* **9**, 610 (2022) (学術論文)
- I-4 Y. Shisaka, E. Sakakibara, K. Suzuki, J. K. Stanfield, H. Onoda, G. Ueda, M. Hatano, H. Sugimoto, O. Shoji: Tetraphenylporphyrin Enters the Ring: First Example of a Complex Between Highly Bulky Porphyrins and a Protein, *ChemBioChem* e202200095 (2022) (学術論文)
- I-5 Y. Yogo, K. Yasuda, T. Takita, K. Yasukawa, Y. Iwai, M. Nishikawa, H. Sugimoto, S. Ikushiro, T. Sakaki: Metabolism of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) by *Streptomyces griseolus* CYP105A1 and its variants, *Drug Metab. Pharmacokinet.* **45**, 100455 (2022) (学術論文)
- I-6 A. Takiguchi, E. Sakakibara, H. Sugimoto, O. Shoji, H. Shinokubo: A Heme-Acquisition Protein Reconstructed with a Cobalt 5-Oxaporphyrinium Cation and Its Growth-Inhibition Activity Toward Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **61**, e202112456 (2022) (学術論文)
- I-7 H. Nakamura, T. Hisano, M. Rahman, T. Tosha, M. Shirouzu, Y. Shiro: Structural insight into heme detoxification by an ABC-type efflux pump in Gram-positive bacteria, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2123385119 (2022) (学術論文)
- I-8 杉本宏: バクテリアのヘムトランスポーター, 「ヘムタンパク質の科学 ~生理機能の理解とその展開に向けて~」 株式会社エヌ・ティー・エス 2022年 (分担著書)
- I-9 杉本 宏「中性子・XFEL・シンクロトロン結晶学を駆使したヘムタンパク質の精密構造解析」第31回 iBIX 研究会 オンライン (茨城) 2022年9月20日 (招待講演)
- I-10 H. Sugimoto: X-ray and Cryo-EM structures of bacterial heme ABC transporter BhuUV-T, 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC10, Kobe), 2022 Nov 28- Dec 3 (招待講演)

- I-11 片岡 万知華、阿部 綾萌、Chai Gopalasingam、Christoph Gerle、城 宜嗣、山本 雅貴、重松 秀樹、杉本 宏「クライオ電子顕微鏡を用いた病原菌ヘムトランスポーターの構造解析」第 48 回生体分子科学討論会（鳥取） 2022 年 6 月 30 日-7 月 1 日（ポスター発表）
- I-12 片岡 万知華、阿部 綾萌、Gopalashingam Chai、Gerle Christoph、城 宜嗣、山本 雅貴、重松 秀樹、杉本 宏「病原菌ヘム ABC トランスポーターのクライオ電子顕微鏡解析／Cryo-EM analysis of bacterial heme ABC transporter」第 60 回生物物理学会年会（函館） 2022 年 9 月 28-30 日（ポスター発表）
- II-1 S. L. Rose, S. Baba, H. Okumura, S. V. Antonyuk, D. Sasaki, T. M. Hedison, M. Shanmugam, D. J. Heyes, N. S. Scrutton, T. Kumasaka, T. Tosha, R. R. Eady, M. Yamamoto, S. S. Hasnain: Single crystal spectroscopy and multiple structures from one crystal (MSOX) define catalysis in copper nitrite reductases, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **119**, e2205664119 (2022) (学術論文)
- II-2 F. Kawai, Y. Furushima, N. Mochizuki, N. Muraki, M. Yamashita, A. Iida, R. Mamoto, T. Tosha, R. Iizuka, S. Kitajima: Efficient depolymerization of polyethylene terephthalate (PET) and polyfuranate by engineered PET hydrolase Cut190, *AMB Express*, **12**, 134 (2022) (学術論文)
- II-3 Y. Nishida, S. Yanagisawa, R. Morita, H. Shigematsu, K. Shinzawa-Itoh, H. Yuki, S. Ogasawara, K. Shimizu, T. Iwamoto, C. Nakabayashi, W. Matsumura, H. Kato, C. Gopalasingam, T. Nagao, T. Qaqorh, Y. Takahashi, S. Yamazaki, K. Kamiya, R. Harada, N. Mizuno, H. Takahashi, Y. Akeda, M. Ohnishi, Y. Ishii, T. Kumasaka, T. Murata, K. Muramoto, T. Tosha, Y. Shiro, T. Honma, Y. Shigeta, M. Kubo, S. Takashima, Y. Shintani: Identifying antibiotics based on structural differences in the conserved allostery from mitochondrial heme-copper oxidases, *Nat. Commun.*, **13**, 7591 (2022) (学術論文)
- II-4 Takeda, K. Shimba, M. Horitani, T. Kimura, T. Nomura, M. Kubo, Y. Shiro, T. Tosha: Trapping of a Mononitrosyl Nonheme Intermediate of Nitric Oxide Reductase by Cryo-Photolysis of Caged Nitric Oxide, *J. Phys. Chem. B*, **127**, 846 (2023) (学術論文)
- II-5 T. Tosha: NO reduction chemistry at heme/non-heme binuclear active center proved by methods using photo-sensitive caged NO, 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (Kobe, Japan), Nov. 28-Dec. 3, 2022 (招待講演)
- II-6 T. Tosha: Mechanism of biological nitric oxide reduction proved by time-resolved structural analysis, REDOX WEEK IN SENDAI 2022, 4th International conference on persulfide and sulfur metabolism in biology and medicine (Sendai, Japan), Oct. 28-Nov. 1, 2022 (招待講演)
- II-7 T. Tosha: Elucidation of Mechanisms for Catalytic Reaction of Nitric Oxide Reductases by Time-resolved Techniques, International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP)-12 (Madrid, Spain), Jul. 10-15, 2022 (招待講演)
- II-8 當舎武彦：光解離性基質の低温光解離を利用した金属酵素短寿命反応中間体の同定、第 61 回電子スピンサイエンス学会年会（熊本市市民会館） 2022 年 12 月 3-4 日（招待講演）
- II-9 當舎武彦：光解離性ケージド基質を用いた金属酵素反応機構の解明、メタルバイオサイエンス研究会 2022（京都テルサ） 2022 年 10 月 19-20 日（招待講演）

- II-10 當舎武彦、榛葉幹治、松浦滉明、平田邦生、山本雅貴、城宜嗣：酸素バリア性フィルムを利用した嫌気下での構造解析の試み、第 60 回日本生物物理学会年会（函館アリーナ・函館市民会館）2022 年 9 月 28 -30 日（ポスター発表）
- II-11 當舎武彦：金属酵素活性中心における一酸化窒素還元反応の分子機構、物性研短期研究会「理論タンパク質物性科学の最前線：理論と実験との密な協働」（東大物性研）2022 年 7 月 26 - 27 日（招待講演）
- II-12 當舎武彦：各種分光計測を駆使した鉄活性中心における一酸化窒素還元酵素の反応機構の解明、第 22 回日本蛋白質科学会年会（多彩な分野からなる「生命金属科学」の最前線）（つくば国際会議場）2022 年 6 月 7 日-9 日（招待講演）
- II-13 石原琴音、當舎武彦：アンモニア酸化細菌由来アンモニア酸化酵素の単離、第 48 回生体分子科学討論会（とりぎん文化会館）2022 年 6 月 30 日-7 月 1 日（ポスター発表）

科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金（令和 4～令和 8 年度）学術変革領域研究（A）（計画班）課題番号 22H05129
研究課題 酸素を誤作動させる分子による酸化反応の遷移状態設計
研究分担者 當舎武彦（研究代表者：莊司長三）
- 2 科学研究費補助金（令和 3～令和 5 年度）基盤研究（B）課題番号 21H02064
研究課題 核共鳴散乱分光を駆使した鉄複核中心と気体分子の化学の解明
研究代表者 當舎武彦
- 3 科学研究費補助金（令和 4～5 年度）新学術領域（研究領域提案型）課題番号 22H04760
研究課題 金属酵素活性中心による一酸化窒素還元反応の高速分子動画撮影
研究代表者 當舎武彦
- 4 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業公募（令和 4～5 年度）
研究課題 薬剤耐性淋菌・緑膿菌に有効な新規抗菌剤の開発
研究分担者 當舎武彦（研究代表者：新谷泰範）
- 5 科学研究費補助金（令和 1～5 年度）新学術領域研究（研究領域提案型）課題番号 19H05768
研究課題 細胞内生命金属動態を制御するタンパク質メタレーション
研究分担者 杉本宏
- 6 科学研究費補助金（令和 3～5 年度）基盤研究（B）課題番号 21H02421
研究課題 生体金属イオンの輸送システムで機能する膜タンパク質の構造解析
研究代表者 杉本宏