

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・緒方英明
Nishikawa, K., Shibata, N., Ogata, H.

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、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。超好熱菌ではセンサー型と電子伝達分岐型[FeFe]ヒドロゲナーゼが同一オペロン上に配置されており、水素濃度に応じて水素代謝をおこなっている。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。さらに、水素から得られる電子を伝達する経路が分岐している電子伝達分岐型ヒドロゲナーゼ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・外敵に应答してそれに対応、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。センサー型[FeFe]ヒドロゲナーゼをはじめとして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・緒方英明
Shibata, N., Nishikawa, K., Ogata, H.

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应答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 C. Furlan, N. Chongdar, P. Gupta, W. Lubitz, H. Ogata, J. N. Blaza, J. A. Birrell, Structural insight on the mechanism of an electron-bifurcating [FeFe] hydrogenase, *eLife*, 11, e79361 (2022)
- I-2 N. Chongdar, P. Rodriguez-Maciá, E. J. Reijerse, W. Lubitz, H. Ogata, J. A. Birrell, Redox tuning of the H-cluster by second coordination sphere amino acids in the sensory [FeFe] hydrogenase from *Thermotoga maritima*, *Chemical Science*, 14, 3682-3692 (2023)
- I-3 S. T. Stripp, B. R. Duffus, V. Fourmond, C. Léger, S. Leimkühler, S. Hirota, Y. Hu, A. Jasniewski, H. Ogata, M. W. Ribbe, Second and Outer Coordination Sphere Effects in Nitrogenase, Hydrogenase, Formate Dehydrogenase, and CO Dehydrogenase, *Chemical Reviews*, 122, 11900-11973 (2022)
- I-4 N. Shibata, Y. Higuchi, B. Kräutler, T. Toraya, Structural insights into the very low activity of the homocoenzyme B₁₂ adenosylmethylcobalamin in coenzyme B₁₂-dependent diol dehydratase and ethanolamine ammonia-lyase. *Chemistry*, 18, e202202196 (2022).
- I-5 C. Furlan, N. Chongdar, P. Gupta, W. Lubitz, H. Ogata, J. N. Blaza, J. A. Birrell, Structure of an electron-bifurcating [FeFe] hydrogenase, 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference, 神戸, 2022年12月2日【口頭発表】
- I-6 C. Furlan, N. Chongdar, P. Gupta, W. Lubitz, H. Ogata, J. N. Blaza, J. A. Birrell*, Structural insight on the mechanism of an electron-bifurcating [FeFe] hydrogenase from *Thermotoga maritima*, EBEC2022, the 21st European Bioenergetics Conference, フランス エクサン・プロバンス, 2022年8月20-25日【口頭発表】
- I-7 T. Sakai, S. Yamaguchi, T. Mashima, N. Kobayashi, H. Ogata, E. Hifumi, T. Uda, S. Hirota, Studies on the association character and structural analysis of antibody light chain that tetramerizes by domain swapping, 第103回日本化学会春季年会, 野田, 2023年3月22-25日【口頭発表】
- I-8 K. Nishikawa, Y. Nakagawa, S. Inoue, T. Chuji, H. Ogata, S. Nakashima, Y. Shigeta, K. Fukutani and Y. Higuchi, New assay system for the enzymatic reaction with gaseous substrates by using Raman spectroscopy, 10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference, 神戸, 2022年12月2日【ポスター】
- I-9 C. Xie, J. Inomata, T. Mashima, H. Ogata, S. Hirota, Hemoprotein oligomerization by ammonium sulfate precipitation at low pH, 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】
- I-10 酒井隆裕, Wahyu Fitriana, 真島剛史, 小林直也, 一二三恵美, 宇田泰三, 緒方英明, 廣田俊, ドメインスワッピングにより4量化する抗体軽鎖の多量化合挙動, 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】
- I-11 酒井隆裕, Wahyu Fitriana, 真島剛史, 小林直也, 一二三恵美, 宇田泰三, 緒方英明, 廣田俊, 4量化する抗体軽鎖の会合挙動と構造解析に関する研究, 第16回バイオ関連化学シンポジウム, 名古屋, 2022年9月10日—9月12日【ポスター】
- I-12 緒方英明, 嶋盛吾, メタン酸化系酵素の構造生化学, CREST「多様な天然炭素資源の活用に資する革新的触媒と創出技術」研究領域総合成果報告会, 神奈川, 2023年3月15日【ポスター】
- I-13 柴田直樹, 樋口芳樹, 虎谷哲夫: O₂により不活性化されたラジカル B₁₂ 酵素ジオールデヒドラターゼの構造解析と補酵素分解物の同定, 第468回ビタミンB研究協議会, 岡山, 2022年9月2日【口頭発表】
- I-14 玉田太郎, 廣本武史, 西川幸志, 樋口芳樹: *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F 株由来 [NiFe]-ヒドロゲナーゼ酸化型の中性子/X線結晶構造解析, 第22回日本蛋白質科学会年会, つくば, 2022年6月8日【口頭発表】
- I-15 西川幸志, 中川由佳, 井上翔太, 中地隆文, 中島聡, 緒方英明, 重田育照, 福谷克之, 樋口芳樹: Raman 分光法を用いたガス状分子を基質とする酵素反応の新規活性測定法, 第

16回バイオ関連化学シンポジウム, 名古屋, 2022年9月10日【口頭発表】

科学研究費補助金等

1. 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（令和2年度～令和4年度）基盤研究(B)（一般） 課題番号：20K03215
研究課題：[FeFe]ヒドロゲナーゼの構造基盤と反応機構
研究代表者 緒方英明