

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

柴田直樹・緒方英明
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。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・緒方英明
Shibata, N., 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応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 N. Chongdar, P. Rodríguez-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-2 T. Hiromoto, K. Nishikawa, S. Inoue, H. Ogata, Y. Hori, K. Kusaka, Y. Hirano, K. Kurihara, Y. Shigeta, T. Tamada, Y. Higuchi, New insights into the oixdiation process from neutron and X-ray crystal structures of an O₂-sensitive [NiFe]-hydrogenase, *Chemical Science*, 14, 9306-9315 (2023)
- I-3 A. Kobayashi, M. Taketa, K. Sowa, K. Kano, Y. Higuchi, H. Ogata, Structure and function relationship of formate dehydrogenases: an overview of recent progress, *IUCrJ*, 10, 544-554 (2023)
- I-4 T. Sakai, T. Mashima, N. Kobayashi, H. Ogata, L. Duan, R. Fujiki, K. Hengphasatporn, T. Uda, Y. Shigeta, E. Hifumi, S. Hirota, Structural and thermodynamic insights into antibody light chain tetramer formation through 3D domain swapping, *Nature Communications*, 14, 7807 (2023)
- I-5 西川幸志, 緒方英明, 第II編第4章 ヒドロゲナーゼの反応機構と産業利用に向けた構造化学, 独立栄養微生物によるCO₂資源化技術(新井博之, 亀谷将史, 石井正治監修), シーエムシー出版, pp 84-92 (2023)
- I-6 緒方英明, フラビンによる電子分岐酵素の構造解析, *日本結晶学会誌*, 65, 4, 220-221(2023)
- I-7 H. Ogata, Spectroscopic characterization of a sensory [FeFe] hydrogenase, 13th International Conference on Hydrogenases, アメリカ ワラワラ, 2023年6月27日【招待講演】
- I-8 緒方英明, 水素酸化還元酵素ヒドロゲナーゼの構造と反応機構, 京都大学大学院理学研究科セミナー, 京都, 12月21日【招待講演】
- I-9 M. Kinuyama, K. Fujiwara, T. Mashima, N. Kobayashi, H. Ogata, S. Hirota,

- Construction of porous crystals with supramolecular structures using heme protein cyclic trimer, 第 104 回日本化学会春季年会, 船橋, 2024 年 3 月 18-21 日【口頭発表】
- I-10 T. Sakai, S. Yamaguchi, T. Mashima, N. Kobayashi, L. Duan, R. Fujiki, H. Kowitz, Y. Shigeta, H. Ogata, E. Hifumi, T. Uda, S. Hirota, Elucidation of the association character and 3D domain-swapped structure of a tetramerizing antibody light chain, 第 104 回日本化学会春季年会, 船橋, 2024 年 3 月 18-21 日【口頭発表】
- I-11 酒井隆裕, 山口将平, 真島剛史, 小林直也, 段練, 藤木涼, Kowitz Hengphasatporn, 重田育照, 緒方英明, 一二三恵美, 宇田泰三, 廣田俊, ドメインスワッピングにより 4 量体化する抗体軽鎖の会合挙動と構造解析に関する研究, 第 23 回蛋白質科学会年会, 名古屋, 2023 年 7 月 5 日-7 日【ポスター】
- I-12 柴田直樹, エンド型ナイロンオリゴマー分解酵素 NylC の立体構造に基づく自己分断機構, 第 472 回ビタミン B 研究協議会, 徳島, 2023 年 9 月 1 日【口頭発表】
- I-13 小林直也, 吉田悠真, 緒方英明, 真島剛史, 廣田俊, 3D ドメインスワッピングに基づいた計算機設計による安定な c 型シトクロム 2 量体の創製, 第 61 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2023 年 11 月 14 日-16 日【ポスター】
- I-14 濱田莉緒, 西川幸志, 緒方英明, 硫酸還元細菌 *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F 株由来 APS 還元酵素の結晶構造, 第 61 回日本生物物理学会年会, 名古屋, 2023 年 11 月 14 日-16 日【ポスター】
- I-15 酒井隆裕, 山口将平, 真島剛史, 小林直也, 段練, 藤木涼, Kowitz Hengphasatporn, 重田育照, 緒方英明, 一二三恵美, 宇田泰三, 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会合挙動と X 線結晶構造, 第 2 回日本抗体学会学術大会, 鹿児島, 2023 年 12 月 1-3 日【ポスター】
- I-16 濱田莉緒, 緒方英明, 硫酸還元に関わる金属酵素の構造解析, 兵庫県立大学播磨理学キャンパス 技術・人材マッチング交流会 2023, 兵庫, 2023 年 12 月 1 日【ポスター】
- I-17 濱田莉緒, 緒方英明, 硫酸還元菌由来 APS 還元酵素の X 線結晶構造解析 第 10 回バイオダイナミクス研究会, 兵庫, 2023 年 12 月 14 日【ポスター】

生命科学専攻

博士前期課程

濱田 莉緒

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