

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

松浦 滉明・柴田直樹・緒方英明
Matsuura, H., 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・松浦滉明・緒方英明

Shibata, N., Matsuura, H., 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 緒方英明, 由里本博也, 阪井康能, メタンモノオキシゲナーゼの構造解析, SPring-8/SACLA 利用研究成果集, 12, 5, 308-310 (2024)
- I-2 H. Ogata, Structural characterization of the [FeFe] hydrogenase from *Thermotoga maritima*, Japanese-European Symposium 2024 in Osaka (IPR), 大阪, 2024 年 5 月 16 日【招待講演】
- I-3 緒方英明, 水素酸化還元酵素ヒドロゲナーゼの反応機構, 奈良先端科学技術大学院大学セミナー, 生駒, 11 月 1 日【招待講演】
- I-4 酒井隆裕, 山口将平, 真島剛史, 小林直也, 段練, 藤木涼, Kowit Hengphasatporn, 重田育照, 緒方英明, 一二三恵美, 宇田泰三, 廣田俊, 3D ドメインスワッピングにより多量化する抗体軽鎖の会合挙動と金属イオンの影響, 第 50 回生体分子化学討論会, 神奈川, 2024 年 6 月 21-22 日【口頭発表】
- I-5 Gissi Novientri, Kodai Fujiwara, Tsuyoshi Mashima, Naoya Kobayashi, Hiroaki Matsuura, Hideaki Ogata, Takayuki Uchihashi, Sotaro Fujii, Yoshihiro Sambongi, Shun Hirota, Construction of a closed regular-triangle trimer of helix-linked cytochrome *c*₅₅₅ using sortase A, 日本化学会第 105 春季年会(2025), 大阪, 2025 年 3 月 26-29 日【口頭発表】
- I-6 高橋鈴乃, 酒井隆裕, 山口将平, 真島剛史, 小林直也, 緒方英明, 一二三恵美, 宇田泰三, 廣田俊, 3D ドメインスワッピングで多量化する抗体軽鎖の会合挙動と金属イオンが多量化へ及ぼす影響, 日本化学会第 105 春季年会(2025), 大阪, 2025 年 3 月 26-29 日【口頭発表】
- I-7 Takahiro Sakai, Shohei Yamaguchi, Tsuyoshi Mashima, Naoya Kobayashi, Lian Duan, Ryo Fujiki, Kowit Hengphasatporn, Yasuteru Shigeta, Hideaki Ogata, Emi Hifumi, Taizo Uda, Shun Hirota, Studies on structural and thermodynamic analysis of antibody light chain tetramer formation through 3D domain swapping, The 3rd International Symposium on Biofunctional

- Chemistry, 名古屋, 2024 年 4 月 24-26 日【ポスター】
- I-8 Rio Hamada, Koji Nishikawa, Hideaki Ogata, Structural analysis of dissimilatory sulfate reductase, 21st IUPAB Congress 2024, 京都, 2024 年 6 月 24-28 日【ポスター】
- I-9 酒井隆裕, 山口将平, 真島剛史, 小林直也, 段練, 藤木涼, Kowit Hengphasatporn, 重田育照, 緒方英明, 一二三恵美, 宇田泰三, 廣田俊, 3D ドメインスワッピングで多量化する抗体軽鎖可変領域の探索と多量化への銅イオンの影響, 第 18 回バイオ関連化学シンポジウム, 筑波, 2024 年 9 月 12 日-14 日【ポスター】
- I-10 濱田莉緒, 西川幸志, 緒方英明, 硫酸還元菌由来 APS 還元酵素の結晶構造解析, 令和 6 (2024) 年度日本結晶学会年会および会員総会, 名古屋, 2024 年 11 月 8-10 日【ポスター】
- I-11 松浦滉明, Marius Horch, Ingo Zebger, Oliver Lenz, 樋口芳樹, 緒方英明, 好熱性水素酸化細菌由来[NiFe]ヒドロゲナーゼの構造化学的研究, 令和 6(2024) 年度日本結晶学会年会および会員総会, 名古屋, 2024 年 11 月 8-10 日【ポスター】
- I-12 永田夢海, 石原夏和子, 竹田翠, 松浦滉明, 緒方英明, ギ酸デヒドロゲナーゼの構造解析に向けた試料調製法の検討, 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 2024, 兵庫, 2024 年 12 月 13 日【ポスター】
- I-13 松浦滉明, Marius Horch, Ingo Zebger, Oliver Lenz, 樋口芳樹, 緒方英明, 好熱性水素酸化細菌由来[NiFe]ヒドロゲナーゼで見つかった触媒反応のショートカット経路, 第 15 回バイオダイナミクス研究会, 兵庫, 2024 年 12 月 5 日【ポスター】
- I-14 永田夢海, 石原夏和子, 竹田翠, 松浦滉明, 緒方英明, メタノール資化性菌由来ギ酸脱水素酵素の結晶構造解析に向けた試料調製法の検討, 第 15 回バイオダイナミクス研究会, 兵庫, 2024 年 12 月 5 日【ポスター】
- I-15 柴田直樹, 森光一, 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の再活性化因子 X 線構造解析, 第 478 回ビタミン B 研究協議会, 滋賀, 2025 年 2 月 28 日【口頭発表】
- I-16 Francis E. Jenney Jr., Hongxin Wang, Simon J. George, Jin Xiong, Yisong Guo, Leland B. Gee, Juan José Marizcurrena, Susana Castro-Sowinski, Anna Staskiewicz, Yoshitaka Yoda, Michael Y. Hu, Kenji Tamasaku, Nobumoto Nagasawa, Lei Li, Hiroaki Matsuura, Tzanko Doukov, Stephen P. Cramer, Temperature-dependent iron motion in extremophile rubredoxins – no need for ‘corresponding states’, *Scientific Reports*, 14, 12197 (2024).
- I-17 Chara Karafoulidi-Restou, Christian Lorent, Sagie Katz, Yvonne Rippers, Hiroaki Matsuura, Yoshiki Higuchi, Ingo Zebger, Marius Horch, Light-Induced Electron Transfer in a [NiFe] Hydrogenase Opens a Photochemical Shortcut for Catalytic Dihydrogen Cleavage, *Angewandte Chemie International Edition*, e202409065 (2024)
- I-18 松浦滉明, 多数の結晶を利用して見るタンパク質構造の多様性, 構造生物学ミニシンポジウム, 石川, 2024 年 12 月 13 日【招待講演】

- I-19 Gissi Novientri, Kodai Fujiwara, Tsuyoshi Mashima, Hiroaki Matsuura, Hideaki Ogata, Takayuki Uchihashi, Sotaro Fujii, Yoshihiro Sambongi, Shun Hirota, Construction of a Cyclic Regular-Triangle Trimer of Cytochrome *c*₅₅₅ with a Central Hole Using Sortase A, *Chemistry A European Journal*, 31, e202404736 (2025).
- II-1 柴田直樹, 山口真稔, 山口友輔, 吉村日向, 樋口芳樹, Wnt シグナル因子 Dickkopf-1 の X 線結晶学的研究, SPring-8/SACLA 利用研究成果集, 12, 6, 382-385 (2024)

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. 公益財団法人ひょうご科学技術協会 学術研究助成
研究課題： 異化的硫酸還元酵素の構造解析による硫酸代謝機構の解明
研究代表者 緒方英明
2. 科学研究費補助金（令和 3 年度～令和 5 年度）基盤研究(C)（一般） 課題番号：24K09357
研究課題： 新規がん増殖シグナル軸 DKK/CKAP4 経路の構造基盤と抗体による阻害機構解明
研究代表者 柴田直樹
3. 公益財団法人ひょうご科学技術協会 学術研究助成
研究課題： バクテリアが産出する顆粒状構造体のバイオリアクター利用のための基盤研究
研究代表者 柴田直樹
4. 2025 年度 物質・デバイス領域共同研究拠点 基盤共同研究課題
研究課題： 真空回折計による微弱な X 線散乱の高感度計測
研究代表者 松浦滉明
5. 公益財団法人兵庫県立大学科学技術後援財団 教育研究助成
研究課題： ギ酸デヒドロゲナーゼの構造化学研究
研究代表者 松浦滉明
6. 令和 6 年度 兵庫県立大学 研究活動推進費（若手）
研究課題： 水素変換酵素ヒドロゲナーゼの電気化学分光測定システムの構築
研究代表者 松浦滉明