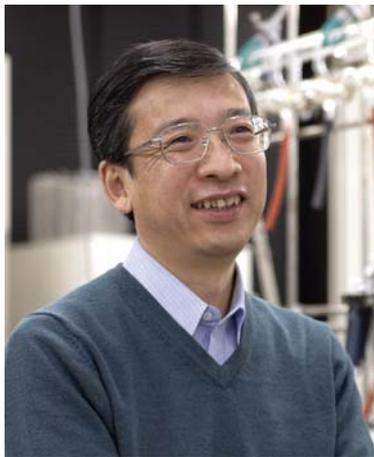


気体分子センサータンパク質の構造と機能

青野 重利

岡崎統合バイオサイエンスセンター
戦略的方法論研究領域
生物無機部門 教授
(併) 生命・錯体分子科学研究領域
生体分子機能研究部門



あおの・しげとし

1959年愛媛県生まれ。1982年東京工業大学工学部卒業、1987年同大学院理工学研究科博士課程修了（工学博士）。日本学術振興会特別研究員、ジョージア大学博士研究員、東京工業大学助手、北陸先端科学技術大学院大学助教授を経て、2002年5月より岡崎統合バイオサイエンスセンター教授（分子科学研究所教授を併任）に就任、現在に至る。

研究テーマは、新規な機能を有する金属タンパク質の生物無機化学的研究。

気体分子が示す新たな生理機能

気体分子と生物との関わりを考えた時、まず頭に浮かぶのは酸素であろう。酸素は、我々人間を含め、酸素呼吸で生育するすべての生物にとって必須の気体分子である。光合成反応の基質として機能する二酸化炭素も、生物と関わる気体分子としてはポピュラーなものである。しかし、これら以外にも、一酸化炭素、窒素、一酸化窒素、水素、硫化水素、メタン、エチレンなど多くの気体分子が、様々な酵素反応の基質、あるいは生成物となることが知られている。

最近になり、気体分子が示す新規な生理機能として、酵素反応の基質あるいは反応生成物としてではなく、気体分子がシグナル分子として機能して様々な生理機能制御に関与していることが報告され始めた。これまでに、酸素、一酸化炭素、一酸化窒素などの気体分子が、細胞の運動性制御、遺伝子発現制御、細胞内での代謝系制御などのプロセスにおいてシグナル分子として機能していることが報告されている。これらの気体分子が生体中でシグナル分子として機能するためには、気体分子を感知するためのセンサータンパク質の存在が必要不可欠である^[1]。我々の研究グループでは、気体分子センサータンパク質を研究対象とし、これら気

体分子センサータンパク質の構造機能相関の解明を目的とした研究を行っている。ここでは、それらの研究の中から、一酸化炭素センサータンパク質（CooA）と酸素センサータンパク質（HemAT）に関する研究成果を紹介する。

一酸化炭素センサータンパク質、CooA

一酸化炭素（CO）が呼吸毒となることはよく知られている。しかし、COがポジティブな生理作用を有しているとは、ながらく考えられてこなかった。ところが、COを「餌」として生育可能なある種の細菌では、COの代謝反応に関与するタンパク質の発現がCOの有無によって制御されていることが分かった。この発現制御は、転写レベル（DNAからメッセンジャーRNAが合成される反応）での制御であり、CooAと名付けられた転写調節因子が、COに依存したタンパク質発現制御に重要な役割を果たしている^[2]。

CooAは、約25 kDaのサブユニットが二量体を形成したホモダイマー構造をとっており、各サブユニットには1分子のヘム（鉄プロトポルフィリン）が存在している。CooA分子中に含まれるヘムがCOセンサーの本体として機能しており、ヘムにCOが結合することにより、CooAは転写調節因子

(実際には、転写活性化因子として機能する)としての活性を獲得する。一方、酸化型(ヘム中の鉄イオンが Fe^{3+} の状態)、および還元型(ヘム中の鉄イオンが Fe^{2+} の状態)CooAは、転写調節因子としては不活性な状態である。CooAの転写調節因子としての活性は、CooAが標的DNAに結合できるか否かによって制御されている。すなわち、CO結合型CooAのみが標的DNAへの結合能を有しており、他の場合には標的DNAに結合することができない。

CooA中に含まれるヘムは、次に示すような特徴を有している。(1)酸化型、還元型、CO結合型、いずれの場合も6配位低スピン構造を有している。(2)酸化型、および還元型ヘムにはN末端窒素(光合成細菌*R.*

*rubrum*由来のCooA(Rr-CooA)の場合はN末端プロリン、CO酸化細菌*C. hydrogenoformans*由来のCooA(Ch-CooA)の場合はN末端 α -アミノ基)が軸配位している。(3)還元型は配位飽和な6配位構造を有しているにも関わらず、生理的条件下においてCOと容易に反応し、CO結合型を生成する。(4)ヘムに配位したN末端とCOとの間で配位子交換反応が進行し、CO結合型が生成する。

これらの性質は、CooAの機能発現とも密接に関係している。COによるCooAの活性化機構については、すべてが明らかになっている訳ではないが、COがヘムに配位することによりCooA分子のコンフォメーション変化が誘起されていることは確かである。

このコンフォメーション変化のドライビングフォースとして、次のような可能性が考えられる。CooA分子中のヘムにCOが配位する際には、ヘムに配位していたN末端がヘム鉄から解離する。このため、N末端を含むポリペプチド鎖のコンフォメーションは、CO配位の前後で大きく変化することとなり、このコンフォメーション変化が分子全体のコンフォメーション変化を誘起する可能性が考えられる。また、COがヘムに配位することにより、ヘムポケット中でヘムの回転が起こることが分かっており、このようなヘムの動きがヘム周辺のコンフォメーション変化を誘起し、最終的に分子全体のコンフォメーションを変化させている可能性もある。

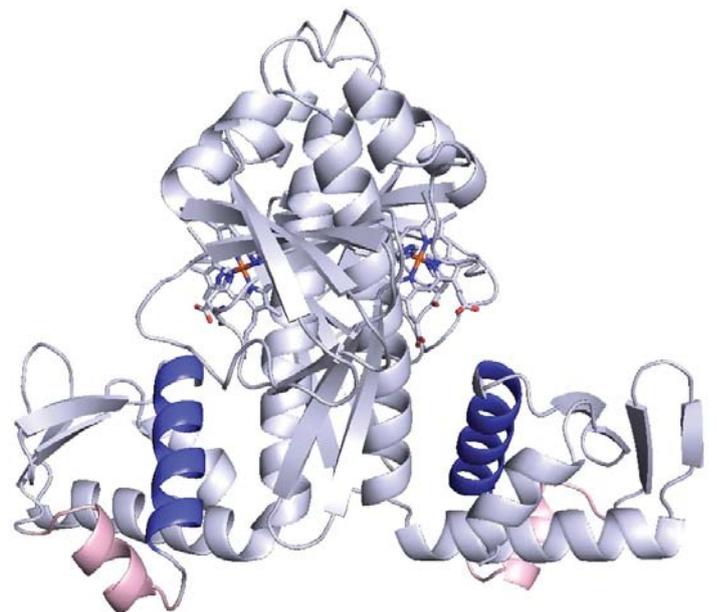


図1 イミダゾール結合型Ch-CooAの構造。タンパク質部分をリボンモデル、ヘムをスティックモデルで表示。青色で示したヘリックスが、DNA結合モチーフであるヘリックス・ターン・ヘリックスモチーフ中の認識ヘリックスであり、標的DNAと直接相互作用する部位にあたる。

COによる活性化機構も含め、CooAの構造機能相関を解明するためには、不活性型および活性型CooAの分子構造を明らかにする必要がある。現状では活性型CooAの構造解明には至っていないが、不活性型の構造についてはアメリカのグループが報告した還元型の構造と、我々が決定したイミダゾール結合型の構造の二つが明らかになっている。X線結晶構造解析により決定したイミダゾール結合型Ch-CooAの構造を図1に示す^[3]。COが配位する場合と同様に、イミダゾールはヘムに配位していたN末端アミノ基と交換する形でヘムに配位しているにも関わらず、CooAは不活性型の構造であった。この理由として、図2に示すような、Met5の主鎖カルボニル酸素とヘムに配位したイミダゾールとの間に形成された水素結合の存在が考えられる。COがヘムに配位した場

合には、ヘムに配位したCOと周辺アミノ酸との間に特別な相互作用はない。しかしイミダゾールが配位した場合には、Met5カルボニル酸素とイミダゾール間に水素結合が存在するため、COが配位した場合に比べて、ヘムの回転およびヘムから解離したN末端ポリペプチドの動きが抑制されているものと推定される。その結果、CooAの活性化には不十分なコンフォメーション変化しか起こらないため、不活性型の構造に留まっていると考えられる。

O₂センサータンパク質、HemAT

HemAT-Bsは、枯草菌のO₂に対する走化性制御系においてシグナルトランスデューサーとして機能するO₂センサータンパク質である。枯草菌のO₂に対する走化性制御系においては、HemAT-BsがO₂の存在を感知した後、一連のシグナル伝達反応が進行し、最

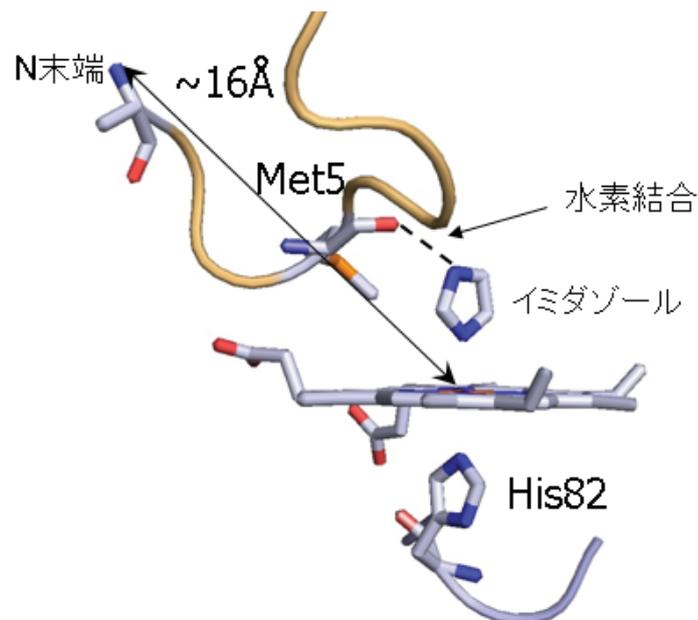


図2 イミダゾール結合型Ch-CooA中のヘム周辺の構造

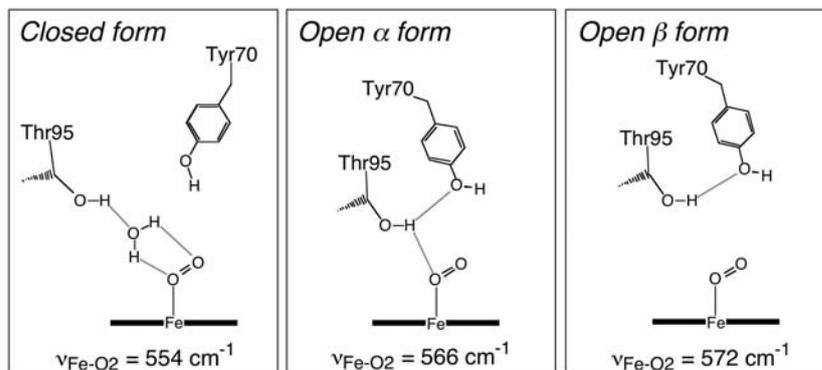


図3 酸素結合型HemAT-Bs中の酸化型ヘムが示す水素結合ネットワーク

最終的にべん毛の回転方向が制御されることにより細胞の運動性が制御されている。

HemAT-Bs中のセンサードメインは、ヘムを含んだグロビン構造を有している。共鳴ラマン分光法を用いた研究により、O₂結合型HemAT-Bsには、ヘムに結合したO₂と周辺アミノ酸残基との間に形成される、図3に示すような異なった水素結合ネットワークを有する3種のコンフォマーが存在することが分かった。ここでは、ヘムポケットに存在するThr95が、ヘムに配位したO₂との水素結合に関与している。O₂の代わりにCOやNOが結合した場合には、ヘムに配位したこれら外部配位子と周辺アミノ酸残基間に水素結合等の相互

作用は存在しない。これらのことから、Thr95とヘムに配位した酸素との水素結合の存在が、HemAT-BsによるO₂の選択的センシングに重要な役割を果たしていると考えられる。

HemAT-Bsによる選択的O₂センシングには、ヘムに配位したO₂への水素結合のみではなく、ヘムプロピオン酸基と周辺アミノ酸残基間での水素結合ネットワークが重要な役割を果たしていることも明らかになっている。すなわち、HemAT-Bs中のヘムには、O₂、CO、NOいずれも結合可能であるが、生理的なりガンドであるO₂が結合した場合にのみ、His86とヘムプロピオン酸基との間で水素結合が形成される。この水素結合形成は、ヘム遠位空

間のコンフォメーションに影響を及ぼし、Thr95とヘムに結合したO₂間での水素結合形成を誘起する。His86をAlaに置換したH86A変異体では、ヘムプロピオン酸基に対する水素結合が形成されない結果、Thr95とヘムに結合した酸素間での水素結合も形成されない。このように、生理的なりガンドがヘムに結合した場合にのみ、ヘムおよびヘムに結合したO₂と周辺アミノ酸残基間での特異的水素結合ネットワークの形成がおり、その結果、HemAT-Bsのコンフォメーション変化が誘起され、最終的にHemAT-Bsの機能発現へと至る一連の分子内シグナル伝達反応が完了するものと考えられる^[4]。

参考文献

- [1] S. Aono, *Dalton Trans.* (24), 3137-3146 (2008)
- [2] S. Aono, *Acc. Chem. Res.* **36**, 825-831 (2003)
- [3] H. Komori, S. Inagaki, S. Yoshioka, S. Aono, Y. Higuchi, *J. Mol. Biol.* **367**, 864-871 (2007)
- [4] H. Yoshimura, S. Yoshioka, Y. Mizutani and S. Aono, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **357**, 1053-10 (2007)