

青野重利(教授)(相関分子科学第一研究部門兼務)

A-1) 専門領域：生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) 一酸化炭素センサータンパク質 CooA の構造と機能に関する研究
- b) 酸素センサータンパク質 HemAT の構造と機能に関する研究
- c) 新規な気体分子センサータンパク質の単離とその性質の解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) これまでの研究においては、紅色非硫黄光合成細菌中に含まれる転写調節因子 CooA が、一酸化炭素を生理的なエフェクターとして利用しており、一酸化炭素存在下においてのみ、転写活性化因子としての活性を獲得する新規な転写調節因子であることを明らかにしてきた。本年度は、好熱性一酸化炭素酸化細菌 *Carboxydothemus hydrogenoformans* 中に、これまで研究対象としてきた CooA のホモログタンパク質が存在していることを明らかにした。本ホモログタンパク質の大量発現系の構築に成功し、その精製法の確立を行った。精製した CooA ホモログは、これまでの CooA 同様、分子中にプロトヘムを含むヘムタンパク質であることが分かった。本 CooA ホモログの活性中心の構造、反応機構を遺伝子工学的的手法および物理化学的手法を用いて検討した結果、これまでの CooA とは微妙に異なった活性中心構造を有していることが明らかになりつつ有る。
- b) 枯草菌中に含まれる HemAT は、本細菌の酸素に対する走化性制御系において酸素センサーとして機能するシグナルトランスデューサータンパク質である。本年度は、HemAT による酸素センシング機構の解明を目的とし、各種アミノ酸変異体を調製し、それらの性質に関し、詳細な検討を行った。その結果、HemAT 中にふくまれるヘムの遠位側ヘムポケットに存在する 70 番目のチロシン、ならびに 95 番目のトレオニンが酸素センシングに重要な役割を果たしていることを明らかにした。HemAT が関与するシグナル伝達機構の解明を目的として *in vitro* 活性測定系の構築も試みている。本系は、センサーとして HemAT、HemAT からシグナルを受容するシグナル伝達タンパク質として CheA および CheV タンパク質から構成されている。これらのタンパク質に、系統的にアミノ酸変異を導入し、変異導入による活性の変化を詳細に解析、検討することにより、シグナル伝達機構の解明を試みている。
- c) 新規な気体分子センサータンパク質として、*S. aureus* 中に含まれる NreB タンパク質を対象とした研究を行っている。NreB は、2 成分情報伝達系を構成するセンサー型ヒスチジンキナーゼであり、その分子中に特徴的なシステイン含有配列を有していることから、鉄硫黄クラスターを含む鉄硫黄タンパク質ではないかとの予想をたて、NreB 大量発現系の構築を行なった。予備的な検討では、発現した NreB は鉄硫黄タンパク質に特徴的な電子吸収スペクトルを示すことが明かとなった。このことから、NreB 中にふくまれる鉄硫黄クラスターが酸素センサーの活性中心として機能している可能性が高いと考えられる。鉄硫黄クラスターが気体分子センサーの活性中心として機能している例は、これまでにほとんど知られておらず、NreB が新規な性質を有する気体分子センサーであると考えられる。

B-1) 学術論文

H. SAWAI, N. KAWADA, K. YOSHIKATO, H. NAKAJIMA, S. AONO and Y. SHIRO, "Characterization of the Heme Environmental Structure of Cytoglobin, a Fourth Globin in Humans," *Biochemistry* **42**, 5133–5142 (2003).

B-3) 総説、著書

S. AONO, "Structural and functional properties of the CO sensing transcriptional activator CooA," *Proceedings of 3rd International Conference on Oxygen and Life*, Yuzuru Ishimura, Ed., *International Congress Series*, **1233**, 243–249 (2002).

S. AONO, "Biochemical and biophysical properties of the CO-sensing transcriptional activator CooA," *Acc. Chem. Res.* **36**, 825–831 (2003).

青野重利, 「一酸化炭素センサーとして機能する転写調節因子CooAの構造と機能」, *Molecular Medicine* **40**, 160-164 (2003).

青野重利, 「一酸化炭素による遺伝子発現制御」, *バイオサイエンスとバイオインダストリー* **61**, 37–38 (2003).

B-4) 招待講演

S. AONO, "Regulation of gene expression by CO: Structure and function of the CO-sensing transcriptional regulator CooA," The 1st International Congress on Bio-Nanointerface (ICBN 2003 TOKYO), Tokyo (Japan), May 2003.

S. AONO, "Structure and function of the heme-based sensor proteins," 8th Eurasia Conference on Chemical Sciences, Ha Noi (Vietnam), October 2003.

S. AONO, "Structure and function of the heme-based sensor proteins," First International Symposium on Biomolecular Chemistry, Awaji (Japan), December 2003.

青野重利, 「気体分子センサータンパク質の構造と機能」, 日本化学会第83回春季年会, 東京, 2003年3月.

青野重利, 「CooAタンパク質による外部信号受容と遺伝子発現の制御」, 日本学術会議シンポジウム「情報の創造と伝達における分子構造論」, 東京, 2003年6月.

青野重利, 「気体分子センサータンパク質による生体機能制御: COセンサー-CooA, O₂センサー-HemATを例として」, 第30回生体分子科学討論会, 京都, 2003年6月.

B-7) 学会および社会的活動

学会誌編集委員

J. Biol. Inorg. Chem., Editorial Advisory Board (2002-).

C) 研究活動の課題と展望

これまでの研究において、一酸化炭素、酸素などの気体分子が生理的なエフェクター分子として機能するセンサータンパク質が、ヘムを活性中心として含む、これまでに例のない新規なヘムタンパク質であることを明らかにしてきた。今後は、これらのヘム含有型センサータンパク質を始めとし、気体分子センサー機能を有する新規なセンサータンパク質の構造・活性相関の解明を目指して研究を進めたい。