

## 6-5 生命・錯体分子科学研究領域

### 生体分子機能研究部門

青野重利(教授)(2002年5月1日着任)

A-1) 専門領域：生物無機化学

A-2) 研究課題：

- a) ヘム含有型気体分子センサータンパク質の構造と機能に関する研究
- b) ヘムを活性中心とする新規な脱水酵素の構造と機能に関する研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) バクテリアの酸素に対する走化性 (Aerotaxis) 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 HemAT は、センサードメインとしてグロビンドメインを有しており、グロビンドメイン中に含まれるヘムに O<sub>2</sub> が結合した場合にのみ、HemAT と複合体を形成している CheA タンパク質の自己リン酸化活性を活性化させる。HemAT センサードメインと大腸菌由来のシグナルトランスデューサータンパク質 Tsr タンパク質の MCP ドメインから調製したキメラタンパク質を用い、センサードメイン中のヘムの酸化状態ならびに配位構造変化による CheA 自己リン酸化制御について検討した結果、本キメラタンパク質においても、センサードメイン中のヘムに O<sub>2</sub> が結合した場合に、CheA の自己リン酸化反応が促進されることが分かった。緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 中に含まれる Aer2 タンパク質が、ヘムを活性中心とする新規な酸素センサータンパク質であることを見出した。Aer2 タンパク質では、分子中に存在する PAS ドメインがセンサードメインとして機能しており、PAS ドメイン中にヘムが含まれていることが分かった。Aer2 は、センサードメインとして機能する PAS ドメインの他に、MCP ドメインを有している。このことから、Aer2 の生理機能は、HemAT と同様、Aerotaxis 制御系におけるシグナルトランスデューサータンパク質であると考えられる。
- b) アルドキシム脱水酵素はアルドキシムの脱水反応によりニトリルを生成する反応を触媒する新規なヘム含有酵素である。本酵素の活性は、分子中に含まれるヘムの酸化状態の違いによって制御されている。すなわち、分子中のヘムが Fe<sup>3+</sup> の状態にある酸化型 Oxd は酵素活性を示さず、ヘムが Fe<sup>2+</sup> の状態にある還元型 Oxd のみが酵素活性を示す。Oxd が酸化還元酵素では無いにも関わらず、ヘムの酸化状態変化により酵素活性が制御されているのは、基質であるアルドキシムのヘム鉄への配位モードが、ヘムの酸化状態の違いにより異なるためであることが分かった。酸化型 Oxd では、アルドキシム分子中の酸素原子がヘム鉄に配位するのに対し、還元型 Oxd ではアルドキシム分子中の窒素原子がヘム鉄に配位する。このような、ヘムの酸化状態変化に伴う基質分子の配位構造変化を利用した活性制御機構は、これまでに全く例の無い、新規な機構である。酸化型 Oxd と基質であるアルドキシムが、不活性な酵素基質複合体を形成することを利用して、この不活性な酵素基質複合体の結晶化に成功した。また、このようにして得られた結晶を低温下、X線照射により還元することで、結晶状態を保ったまま、還元型 Oxd とアルドキシムの酵素基質複合体 (Michaelis complex) へと変換することが可能であった。その結果、Oxd の酵素基質複合体 (Michaelis complex) の結晶構造解析にも成功した。得られた結晶構造に基づき、本酵素反応の反応機構を明らかにすることに成功した。

B-1) 学術論文

H. SAWAI, H. SUGIMOTO, Y. KATO, Y. ASANO, Y. SHIRO and S. AONO, "X-Ray Crystal Structure of Michaelis Complex of Aldoxime Dehydratase," *J. Biol. Chem.* **284**, 32089–32096 (2009).

B-4) 招待講演

S. AONO, "Physiological role of thiolate coordination to the heme in CooA from *R. rubrum*," 16th International Conference on Cytochrome P450, Okinawa (Japan), June 2009.

S. AONO, "Molecular oxygen regulates the enzymatic activity of a heme-containing diguanylate cyclase, HemDGC," 14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC-14), Nagoya (Japan), July 2009.

S. AONO, "Structure and function of aldoxime dehydratase containing a heme as the active center for dehydration reaction," Symposium on Advanced Biological Inorganic Chemistry (SABIC-2009), Mumbai (India), November 2009.

H. SAWAI, H. SUGIMOTO, Y. KATO, Y. ASANO, Y. SHIRO and S. AONO, "Reaction mechanism of aldoxime dehydration revealed by X-ray crystal structure of the Michaelis complex of aldoxime dehydratase," 2nd Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences Experiments and Simulations, Nagoya (Japan), December 2009.

青野重利, 「一酸化炭素センサー機能を有する転写調節因子 CooA の構造機能相関」第82回日本生化学大会, 神戸, 2009年10月.

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

触媒学会生体関連触媒研究会世話人 (2002–).

日本化学会生体機能関連化学部会幹事 (2007–).

日本化学会東海支部常任幹事 (2009–).

学会の組織委員等

第14回国際生物無機化学会議組織委員会総務委員長 (2009).

Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations 組織委員 (2008, 2009).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員 (2005–2007).

日本学術振興会国際事業委員会書面審査員 (2005–2007).

学会誌編集委員

*J. Biol. Inorg. Chem.*, Editorial Advisory Board (2002–2004).

B-10) 競争的資金

文部科学省科研費特定領域研究(公募研究)「一酸化炭素をエフェクターとする転写調節因子の一酸化炭素応答およびDNA認識機構」青野重利 (1998年–2000年).

文部科学省科研費基盤研究(C)「シグナルセンサーとしてのヘムを有する転写調節因子の構造と機能に関する研究」青野重利 (2000年–2001年).

文部科学省科研費特定領域研究(計画研究)「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」青野重利(2000年-2004年).

日本学術振興会科研費基盤研究(B)「ヘムを活性中心とする気体分子センサータンパク質の構造と機能」青野重利(2002年-2003年).

日本学術振興会科研費萌芽研究「気体分子センサータンパク質の構造機能解析とそのバイオ素子への応用」青野重利(2002年-2003年).

東レ科学振興会科学技術研究助成金「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」青野重利(2003年).

日本学術振興会科研費基盤研究(B)「生体機能制御に関与する気体分子センサータンパク質の構造と機能」青野重利(2004年-2006年).

文部科学省科研費若手研究(B)「新規な金属中心を有する酸素センサータンパク質の構造とシグナル伝達機構」吉岡資郎(2005年-2006年).

文部科学省科研費特定領域研究(公募研究)「タンパク質配位空間を利用した気体分子センシングとシグナル伝達」青野重利(2005年-2007年).

内藤記念科学振興財団内藤記念科学奨励金(研究助成)「気体分子による生体機能制御のケミカルバイオロジー」青野重利(2006年).

倉田記念日立科学技術財団倉田奨励金(研究助成)「一酸化炭素,一酸化窒素,酸素による遺伝子発現制御の分子機構」青野重利(2006年).

文部科学省科研費若手研究(B)「新規な機能を有する酸素センサータンパク質における機能発現機構の解明」吉岡資郎(2007年-2008年).

日本学術振興会科研費基盤研究(B)「気体分子を生理的エフェクターとする金属含有センサータンパク質の構造と機能」青野重利(2007年-2009年).

文部科学省科研費特定領域研究(公募研究)「ガス分子により駆動される新規なセンサータンパク質の機能発現機構」青野重利(2007年-2010年).

#### C) 研究活動の課題と展望

近年,酸素(O<sub>2</sub>),一酸化炭素(CO),一酸化窒素(NO)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し,遺伝子発現制御,走化性制御,セカンドメッセンジャー(cyclic di-GMP)の合成/分解制御など様々な生理機能制御に関与していることが報告され,気体分子の新規生理機能として大きな注目を集めている。当研究室では,これら気体分子が生理機能を発揮するために必要不可欠な気体分子センサータンパク質を研究対象とし,それらの構造機能相関ならびに機能発現機構を分子レベルで明らかにすることを目的として研究を進めている。今後は,構造生物学的な実験手法を活用し,これら気体分子センサータンパク質のより詳細な構造機能相関解明を進めるとともに,気体分子以外の小分子,金属イオン等のセンサータンパク質に関する研究にも取り組みたいと考えている。