

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) 新規なセンサー型転写調節因子の構造と機能に関する研究
- b) 細胞内の遷移金属イオンの恒常性維持に関するタンパク質の構造機能相関解明

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 最近、ビタミン B12 (アデノシルコバラミン) が光センサーとして機能し、光に応答した遺伝子発現の制御に関与していることが報告され、ビタミン B12 の新規な生理機能として注目を集めている。*Thermus thermophilus* に含まれる CarH は、カロテノイド色素合成酵素の発現を光依存的に制御している転写調節因子であり、アデノシルコバラミンを光センサーとして利用していると考えられているが、その構造や機能については不明な点が多く残されている。我々は、暗所で調製したアデノシルコバラミン結合型 CarH (AdoCbl-CarH) は、四量体構造を有しているが、これに可視光を照射すると単量体へと解離することを明らかにした。光照射による四量体から単量体への高次構造変化は不可逆的な変化であり、光照後のサンプルを暗所に戻しても四量体へと戻ることはなかった。CarH による DNA 結合反応の予備的な検討実験の結果、四量体構造を有している AdoCbl-CarH が DNA 結合能を有している一方で、単量体構造の CarH は DNA 結合能を示さないことが分かった。CarH による光センシング、および光による CarH の機能制御の分子機構を明らかにするためには、光感知前後での CarH の構造情報が必要不可欠である。そこで、CarH の結晶構造解析を行い、暗所で調製した AdoCbl-CarH の結晶構造解析に成功した。得られた結晶構造中で CarH は四量体を形成しており、光感知前の状態にある CarH の構造を反映していると考えられる。CarH プロトマーは三つのドメイン (N 末端側から順に DNA 結合ドメイン helix-bundle ドメイン Rossmann-fold ドメイン) から構成されていた。現在、得られた構造を基に、CarH による光センシングの分子機構解明を進めている。
- b) コリネバクテリア中に含まれるヘム取り込み系を対象とし、一連のヘム取り込みタンパク質の構造と機能の解明を進めている。本系は、コリネバクテリアの細胞表層に存在し、ヘムの結合・輸送に関する HtaA-HtaB タンパク質と、細胞内へのヘム輸送に関する HmuT-HmuU-HmuV タンパク質から構成されている。今年度の研究では、HmuT の結晶構造決定に成功した。HmuT は N 末端ドメインと C 末端ドメインが一本の α ヘリックスにより連結された構造をとっており、2つのドメイン間に形成されたクレフトにヘム 1 分子が結合していた。ヘムは N 末端ドメイン中の His141 と C 末端ドメイン中の Tyr240 を軸配位子とする 6 配位構造をとっていた。ヘム軸配位子として機能する Tyr240 は、その近傍に存在する Arg242 と水素結合を形成していた。Arg242 を Ala に置換した変異体も、野生型と同様にヘムを結合することから、この水素結合は少なくとも HmuT のヘム結合能には影響を及ぼさないことが分かった。HmuT に結合したヘムは、ヘムの α - γ メソ炭素軸回りに互いに 180 度回転した二種類の配向が混在していた。

B-3) 総説, 著書

N. MURAKI, C. KITATSUJI and S. AONO, "A new biological function of heme as a signaling molecule," *J. Porphyrins Phthalocyanines* **19**, 9–20 (2015).

B-4) 招待講演

S. AONO, "Molecular Mechanisms of Heme Acquisition in *Corynebacterium glutamicum* Revealed by X-Ray Crystallography," 5th Georgian Bay International Conference on Bioinorganic Chemistry, Parry Sound (Canada), May 2015.

S. AONO, "Structural basis for heme transport by HmuT in *Corynebacterium glutamicum*," 227th The Electrochemical Society Meeting, Chicago (U.S.A.), May 2015.

S. AONO, "Regulation of heme homeostasis in Gram positive bacteria," 17th International Conference on Biological Inorganic Chemistry (ICBIC-17), Beijing (China), July 2015.

N. MURAKI, Y. OKAMOTO and S. AONO, "Molecular Mechanisms of Heme Homeostasis in Gram-positive Bacteria," Pacificchem 2015, Honolulu (U.S.A.), December 2015.

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 (2007–2014).

日本化学会東海支部常任幹事 (2009–2010).

学会の組織委員等

14th International Conference on Biological Inorganic Chemistry 組織委員会総務委員長 (2009).

The first International Symposium on Biofunctional Chemistry 組織委員 (2012).

Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences—Experiments and Simulations 組織委員 (2008–2010, 2012–2015).

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).

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2010–2012, 2014–2015).

学会誌編集委員

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

Biosensors, Editorial Board (2010–).

Chemistry Letters, Section Editor (2013–).

B-10) 競争的資金

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).

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).

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).

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).

ノバルティス科学振興財団研究奨励金「ガス分子により駆動される生体内シグナル伝達の分子機構解明」青野重利(2010年).

野田産業科学研究所研究助成「ヘムをシグナル分子とする*Lactococcus lactis*における遺伝子発現制御」青野重利(2011年).

科研費挑戦的萌芽研究「環境汚染物質検出用の高感度蛍光プローブを装備したホーミングセルの創製」青野重利(2011年-2012年).

科研費基盤研究(B)「ガス分子による生体機能制御に関するセンサータンパク質の構造と機能」青野重利(2011年-2013年).

科研費挑戦的萌芽研究「生物の環境センシング機能を基盤とした高感度な環境汚染物質検出システムの構築」青野重利(2013年-2014年).

科研費挑戦的萌芽研究「環境汚染物質に対する自発集積能を有する高感度汚染検出システムの構築」青野重利(2015年-2016年).

C) 研究活動の課題と展望

生物は、様々な外部環境の変化に応答・対応しながら、生体内の恒常性を維持している。我々の研究グループでは、生物にとって最も重要な遷移金属イオンである鉄イオンの細胞内恒常性維持に興味をもち、細胞内の鉄イオンの恒常性維持機構解明を目的とした研究に取り組んでいる。なかでも、鉄イオンを含む化合物であるヘム分子に着目し、細胞内ヘム濃度の恒常性維持に関与している転写調節因子やヘム分子取込み・排出に関与する一連のタンパク質の構造機能相関解明に関する研究に重点を置き、研究を進めている。本研究は、細胞中における遷移金属イオン濃度の恒常性維持機構の解明という、大きな研究目標への出発点ともいえる研究である。今後は、構造生物学的、ならびに生化学・分子生物学的な実験手法を活用し、ヘムを含む遷移金属イオンの細胞内濃度恒常性維持に関与するタンパク質群の構造機能相関解明を進めていきたいと考えている。