

2-3 生物無機

青野 重利 (教授)

1) 専門領域：生物無機化学

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

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 一酸化炭素を生理的なエフェクターとする転写調節因子 CooA は、これまで、紅色非硫黄光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* 由来のもの (Rr-CooA) しか報告されていなかった。我々は、好熱性一酸化炭素酸化細菌 *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* 中に、Rr-CooA のホモログタンパク質 (Ch-CooA) が存在していることを明らかにし、Ch-CooA の構造と機能の解明を行った。Ch-CooA の活性中心の構造、反応機構を遺伝子工学的手法および物理化学的手法を用いて検討した結果、Ch-CooA 中に含まれるヘムは Rr-CooA の場合とは異なった配位構造を有していること、Ch-CooA の酸化還元電位は Rr-CooA に比べ 500 mV 以上も正にシフトしていることが明らかとなった。現在は、これら性質の違いがどのような生理的意義を有しているかについて検討を行っている。

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、共鳴ラマンスペクトル法を用い、HemAT による酸素センシング機構の解明を行った。その結果、HemAT 中のヘムに酸素分子が結合した酸素化型 HemAT では、ヘムポケットに存在する 70 番目のチロシン、ならびに 95 番目のトレオニンと酸素分子との間で異なった相互作用を示す 3 種のコンフォーマーが存在することが明らかとなった。また、95 番目のトレオニンは酸素分子の選択的センシングに、70 番目のチロシンは酸素分子をセンシングした後のシグナル伝達に関与していると考えられる。さらに、HemAT が関与するシグナル伝達機構の解明を目的として、HemAT、ならびに HemAT からシグナルを受容するシグナル伝達タンパク質である CheA および CheV タンパク質から構成される *in vitro* 活性測定系の構築も試みている。

c) 新規なセンサータンパク質として、硫酸還元菌 *Desulfovibrio vulgaris* 中に含まれる DcrA タンパク質を対象とした研究を行っている。DcrA は、HemAT と同様、走化性制

御系におけるシグナルトランスデュ?サ?タンパク質であるが、現在のところ、どのような外部シグナルをセンシングしているかは不明である。本年度は、膜タンパク質である DcrA のペリプラズムドメイン (DcrA-N) のみを発現させ、得られた DcrA-N の諸性質の解明を行った。その結果、DcrA-N はタンパク質部分と共有結合した c 型ヘムを含む、新規なヘムタンパク質であることが分かった。これまでに報告されているヘム含有型センサータンパク質はすべて、b 型ヘムをセンサーの活性中心として有しており、c 型ヘムを活性中心とするセンサータンパク質は DcrA が初めての例である。DcrA-N 中に含まれるヘムは、酸化型では第 6 配位子として水分子が配位した 6 配位高スピン構造をとる。ところがヘム鉄が還元された還元型 DcrA-N では、2つのアミノ酸残基が配位した 6 配位低スピン型となる。また、還元型 DcrA-N は配位飽和な状態にあるにも関わらず、CO と容易に反応し、CO 結合型を生成することが分かった。

4) 学術論文

S. Akiyama, T. Fujisawa, K. Ishimori, I. Morishima and S. Aono, "Activation mechanisms of transcriptional regulator CooA revealed by small-angle X-ray scattering" *J. Mol. Biol.*, 42, 5133-5142 (2004).

T. Ohta, H. Yoshimura, S. Yoshioka, S. Aono and T. Kitagawa, "Oxygen sensing mechanism of HemAT from *B. subtilis*: A resonance Raman spectroscopic study" *J. Am. Chem. Soc.*, 126, 15000-15001 (2004).

S. Inagaki, C. Masuda, T. Akaishi, H. Nakajima, S. Yoshioka, T. Ohta, T. Kitagawa and S. Aono, "Spectroscopic and Redox Properties of a CooA Homologue from *Carboxydotherrmus hydrogenoformans*" *J. Biol. Chem.*, 280, 3269-3274 (2005).

K. Kobayashi, S. Yoshioka, Y. Kato, Y. Asano and S. Aono, "Regulation of aldoxime dehydratase activity by redox-dependent change in the coordination structure of the aldoxime-heme complex" *J. Biol. Chem.*, 280, 5486-5490 (2005).

6) 国際会議発表リスト

S. Aono, "Biochemical and biophysical properties of the CO-sensor protein CooA" The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama (Japan), April 2004.

S. Aono, H. Yoshimura, S. Yoshioka, K. Kobayashi, T. Ohta, T. Kitagawa "Molecular mechanism of oxygen sensing by a heme-based sensor protein HemAT-Bs" Third International Conference on Porphyrins and Phtalocyanines (ICPP3), New Orleans (U. S. A.), July 2004.

S. Aono, "Structure and function relationships of the heme-based sensor proteins" 2nd Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC-II), Goa (India)

December 2004.

S. Aono, "Molecular mechanism of gene regulation by the heme-based CO sensor protein" Molecule-Based Information Transmission and Reception: Application of Membrane Protein Biofunction, Okazaki (Japan), March 2005.

7) 招待講演

S. Aono, "Biochemical and biophysical properties of the CO-sensor protein CooA" The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama (Japan), April 2004.

S. Aono, "Structure and function relationships of the heme-based sensor proteins" 2nd Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC-II), Goa (India) December 2004.

青野重利「気体分子センサーとして機能するヘムタンパク質の構造と機能」、日本生物物理学会第42回年会、京都、2004年12月。

S. Aono, "Molecular mechanism of gene regulation by the heme-based CO sensor protein" Molecule-Based Information Transmission and Reception: Application of Membrane Protein Biofunction, Okazaki (Japan), March 2005.

8) 学会および社会的活動

学会誌編集委員 *J. Biol. Inorg. Chem.*, Editorial Advisory Board (2002-2004)