

## 2-2 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) 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) ヘムをシグナル分子とする新規な転写調節因子の構造と機能に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 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である Aer 2 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。Aer 2 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。ヘム含有 PAS ドメインを有するセンサータンパク質は、これまでにいくつか報告されている。代表的なものとして、FixL, EcDOS などがある。これらのヘム含有 PAS ドメインと Aer 2 の PAS ドメインのアミノ酸配列を比較すると、Aer 2 のアミノ酸配列中で、FixL, EcDOS においてヘム近位側軸配位子として機能している His に対応する位置に His (His234) が保存されている。His234 を Ala に置換した H234A 変異体は、ヘムをほとんど含まないアポ体として発現することが分かった。これらの結果より、Aer 2 では His234 がヘム近位側軸配位子として機能していると考えられる。共鳴ラマン分光法を用いて Aer 2 のヘム近傍構造の解析を行い、ヘムに配位した酸素あるいは一酸化炭素と相互作用するアミノ酸残基の同定を行った。
- b) 乳酸菌 (*Lactococcus lactis*) はヘム生合成系を欠損しているが、外部からヘム分子を取込むことにより酸素呼吸により生育可能である。しかし、必要量以上に取り込まれたヘム分子は、活性酸素産生などにより細胞毒性を示すため、細胞内のヘム濃度は厳密な制御を受けている。本年度の研究において、YgfC タンパク質が乳酸菌細胞内のヘム濃度制御に重要な役割を果たしていることを明らかにした。YgfC は、ヘムをシグナル分子 (エフェクター分子) とする転写調節因子であり、その DNA 結合活性がヘムの有無により制御されていることを明らかにした。ヘムを含まないアポ型 YgfC は、DNA 結合活性を有しており、リプレッサーとして機能していると考えられる。一方、ヘムが結合することにより、YgfC は DNA 結合活性を失うことが分かった。

4) 学術論文

**H. Sawai, S. Yoshioka, T. Uchida, M. Hyodo, Y. Hayakawa, K. Ishimori and S. Aono**, "Molecular Oxygen regulates the enzymatic activity of a heme-containing diguanylate cyclase (HemDGC) for the synthesis of cyclic di-GMP" *Biochim. Biophys. Acta. Proteins and Proteomics* **1804**, 166-172 (2010).

**H. Nakajima, N. Takatani, K. Yoshimura, M. Ito, S. Aono, Y. Takahashi and Y. Watanabe**, "The role of the Fe-S cluster in the sensory domain of nitrogenase transcriptional activator VnfA from *Azotobacter vinelandii*" *FEBS J.* **277**, 817-832 (2010).

6) 国際会議発表リスト

**H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro and S. Aono**, “X-ray Crystal Structure of Michaelis Complex of A Novel Heme Enzyme Aldoxime Dehydratase” 10<sup>th</sup> European Biological Biological Inorganic Chemistry Conference (Eurobic10), Thessaloniki, (Greece), June 2010.

**S. Aono**, “Trap of the Michaelis Complex of a Novel Heme Enzyme, Aldoxime Dehydratase” 6<sup>th</sup> International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-6), New Mexico, (USA), July, 2010.

**H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro and S. Aono**, “Enzymatic reaction mechanism of aldoxime dehydratase revealed by X-ray crystal structure of Michaelis complex” 5<sup>th</sup> Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC5), Kaohsiung, (Taiwan), November 2010.

**S. Aono**, “A new oxygen sensor protein adopting a heme-containing PAS domain as a sensor for aerotaxis control” Pacificchem 2010, Hawaii, (USA), December 2010.

**H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro and S. Aono**, “X-ray crystal structure of the Michaelis complex of a novel heme enzyme, aldoxime dehydratase OxdRE” Pacificchem 2010, Hawaii, (USA), December 2010.

**Y. Yoshida, H. Ishikawa, S. Aono and Y. Mizutani**, “Protein dynamics and sensing mechanism of gas sensor protein HemAT” Pacificchem 2010, Hawaii, (USA), December 2010.

7) 招待講演

**S. Aono**, “A new oxygen sensor protein adopting a heme-containing PAS domain as a sensor for aerotaxis control” Pacificchem 2010, Hawaii (USA), December 2010.

**S. Aono**, “Trap of the Michaelis Complex of a Novel Heme Enzyme, Aldoxime Dehydratase” 6<sup>th</sup> International Conference on Porphyrins and Phthalocyanines (ICPP-6), New Mexico, (USA), July 2010.

澤井仁美, 杉本宏, 加藤康夫, 浅野泰久, 城宜嗣, 青野重利「ヘム蛋白質の新規な構造と機能：アルドキシム脱水酵素の活性制御機構」, 日本蛋白質科学会2010年度年会, 札幌, 2010年6月.

8) 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, 会計幹事 (2009-2010).

学会の組織委員等

Japan-Korea Seminar on Biomolecular Sciences -Experiments and Simulations 組織委員 (2008-2010).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2010-).

学会誌編集委員

Biosensors, Editorial Board (2010-).

11) 外部獲得資金

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）.

科研費研究活動スタート支援, 「ヘム含有 PAS ドメインをセンサーとする新規なシグナル伝達タンパク質の構造と機能」, 澤井仁美（2010年－2011年）.