

2020年度 iBIX-JAXA-KEK 物構研-QST 合同タンパク質研究会

WEB 配信によるオンライン開催といたします。

テーマ：「金属タンパク質の金属イオンの電荷」

主催：

茨城県中性子利用研究会

(国研) 宇宙航空研究開発機構 (JAXA) きぼう利用センター

高エネルギー加速器研究機構 (KEK) 物質構造科学研究所

(国研) 量子科学技術研究開発機構 (QST) 量子生命科学領域

共催：中性子産業利用推進協議会

J-PARC MLF 利用者懇談会

新世代研究所 水和ナノ構造研究会

開催日時：2020年11月9日(月) 13:00-17:00

場所：オンライン開催(ウェブ会議システムは後日通知)

参加費：無料

趣旨：生体には、多くの金属タンパク質がある。この金属イオンの価数は重要である。鉄はトランスフェリンで運ばれ、フェリチンに蓄えられる。これらの鉄が Fe(II)か Fe(III)かであるかは現在でも議論の余地があるが、最終的には、ヘモグロビンは Fe(II)を利用する。ヘム Fe(II)イオンに酸素分子が付き、酸素を運ぶことができる。他方、3 価の鉄ヘモグロビンはメトヘモグロビンと呼ばれ、Fe(III)イオンに酸素分子が付かない。シトクロム b5 レダクターゼがこのメトヘモグロビン Fe(III)をヘモグロビン Fe(II)に還元する。無脊椎動物のなかには、ヘモシアニンが酸素を運ぶ。このタンパク質は、2 個の Cu(II)イオンに 1 個の酸素分子が挟まれる。

金属タンパク質の金属イオンはタンパク質内にどのように取り込まれるのだろうか。スーパーオキシドディスムターゼ SOD のようにフォールディングの途中で金属イオンを取り込むタンパク質と Zn フィンガータンパク質のように組みあがった後で金属イオン Zn²⁺イオンを取り込むものがある。他に、Hg や Cd のように間違っただけでフォールディングの途中で取り込まれ、ヒトにとっては有害となるものがある。

金属酵素は金属イオンとして第 4 周期の V、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、第 5 周期の Mo、Cd、第 6 周期の W の金属イオンを利用する。これらの金属イオンが活性中心となり、特異的に選択された基質への反応を助け、生成物を放出する。多くの金属酵素の反応式は分かっているが、分子科学的な反応機構は分かっているものがほとんどである。これらは水溶液中での反応であり、基質は勿論水に溶けて、水分子が基質に付いている。酵素は水に囲まれ、その反応中心においても水に覆われており、その水が外れない限り反応は進まない。基質の水が外れコンフォメーション変化を起こし、金属の周囲の水が外れ、反応が進む。これらの水分子を含めた反応機構を分子科学的に把握する段階にきている。

金属酵素として第 2 周期の Mg²⁺イオンのように電荷は変わらないが、キナーゼ、アミノアシル-tRNA 合成酵素のように補酵素の ATP を支えるもの、炭酸脱水素酵素、カルボキシペプチターゼのように電荷を変えずに Zn²⁺イオンに配位した水分子が基質に働くもの、金属の酸化還元電位を利用するものがあるが、これが働くときの金属イオンの価数は重要である。これ

らの金属タンパク質について、水を含めて現在どこまで分かっているのか、最近のトピックスも交えて6講演を行う。

研究会主査：

今野美智子（茨城県）、吉崎泉（JAXA）、千田俊哉（KEK 物構研）、玉田太郎（QST）
（講演時間は質疑応答時間 10 分を含む）

プログラム案

司会 玉田 太郎（QST）

13:00 開会挨拶 今野 美智子（茨城県）

13:05-13:25 JAXA PCG 膜タンパク質プロジェクトの紹介

成田 宏隆（JAXA）

JAXA Protein Crystal Growth (JAXA PCG)プロジェクトでは、これまで水溶性タンパク質を中心に、国際宇宙ステーションでの高品質タンパク質結晶生成実験を行なってきた。一方で、創薬標的として重要な膜タンパク質については、宇宙実験の各種制約のため実施数は極めて少ない状況となっている。現在、JAXA PCG プロジェクトでは、膜タンパク質結晶化実験の定常運用を目指し、膜タンパク質生産・精製・評価システムを整備するとともに、脂質キュービック相法などの結晶化手法に対応した器具開発、膜タンパク質に特化した結晶化技術開発を進めている。本発表ではこれら現状を紹介する。

13:25-14:15 特別講演 銅アミン酸化酵素の高分解能中性子結晶構造と触媒反応機構

岡島 俊英（大阪大学）

銅アミン酸化酵素は一級アミンの酸化的脱アミノ反応を触媒する。本酵素は様々な生物に存在し多様な生理機能をもつが、活性中心には共通して酸化還元補酵素トパキノン (TPQ) と銅イオンが存在する。我々は、土壌細菌に由来する酵素を用いて、触媒反応の詳細な機構を明らかにしてきたが、最近、本酵素の中性子結晶構造を高分解能で決定することに成功した。タンパク質中の水素原子が可視化されるため、X線結晶構造解析では得られない精密な構造情報が得られた。TPQ がエノール-ケト間の平衡状態にあることに加え、活性中心が特異なプロトン化状態をもつことを解明できた。本酵素の中性子構造の詳細とそれにもとづく触媒機構を紹介する。

14:15-14:45 高電位鉄硫黄タンパク質の高分解能 X 線結晶構造解析

平野 優（QST）

これまで紅色光合成細菌由来の高電位鉄硫黄タンパク質 (HiPIP) の X 線結晶構造解析が報告されている (Nogi *et al.*, 2000; Liu *et al.*, 2002; Takeda *et al.*, 2010)。さらに世界最高分解能 (0.48 Å) の回折データを用い、外殻電子密度を含めた立体構造精密化にも成功している (Hirano *et al.*, 2016)。また、酸化型と還元型について高分解能 (0.8 Å) 立体構造の比較 (Ohno *et al.*, 2017) や、完全重水素化の影響についても報告されている (Hanazono *et al.*, 2019)。本講演では、HiPIP の高分解能構造解析から明らかとなった知見について議論する。

14:45-15:00 休憩

司会 千田俊哉 (KEK 物構研)

15:00–15:30 放射光ビームラインにおける顕微分光装置の利用

引田 理英 (KEK 物構研)

KEK 物構研フォトンファクトリーのタンパク質結晶構造解析ビームラインである AR-NW12A では、タンパク質結晶の X 線回折実験と併せて、レーザー光や白色光を光源としたタンパク質結晶の分光実験が可能な装置開発及び環境整備を行っている。本装置を利用することで、電子状態の変化が機能に結びつく金属タンパク質の分光解析や X 線によるダメージの見積もりが可能となる。開発が終了したオフライン顕微分光装置についてはユーザー利用に供しており、本発表では、オフライン顕微分光装置の利用について、その利用例を交えながら紹介する。さらに、現在開発を進めているオンライン顕微分光装置の現状についても紹介する。

15:30–16:20 特別講演 病原性微生物における金属動態の分子機構解析

津本 浩平 (東京大学)

抗生物質に対する薬剤耐性を獲得した耐性菌の出現が世界中で報告されており、院内感染の原因になるなど極めて重大な社会問題となっている。薬剤耐性菌が出現しづらい抗菌戦略として、病原性微生物が宿主において病原性を発揮するために必要な病原因子を標的とする戦略が注目されている。我々は、ヒトを宿主として生育する微生物のうち、黄色ブドウ球菌および化膿レンサ球菌を標的とし、病原因子の一つとして、黄色ブドウ球菌および化膿レンサ球菌のそれぞれにおいて宿主からの鉄取り込みを担う一連のタンパク質群について、その分子機構の解明と機能阻害剤の探索を進めている。講演では、これまでの成果をまとめ、金属生命科学領域の今後を議論する。

16:20–16:50 Ni 結合型ルブレドキシンの物性・機能相関の解明

庄村 康人 (茨城大学)

ルブレドキシンはバクテリアがもつ電子伝達タンパク質の一つで、4つのシステイン残基が四面体型に配位した鉄錯体を酸化還元中心とする。このルブレドキシんに結合した鉄は様々な遷移金属と置換可能であり、硫酸還元菌由来のルブレドキシンにおいてはニッケルに置換すると水素合成活性を示すことが、1980年代後半に報告されている。我々のグループでは、高度好熱菌由来ルブレドキシンを研究対象とし、その水素合成活性の向上を目指した試料調製法の最適化、部位特異的変異体の調製、およびその結晶構造解析を行ってきたが、本研究会ではこれらの最新の研究成果について報告する。

16:50 閉会挨拶 吉崎 泉 (JAXA)

<参加申込み先>

参加を希望される方は下記申込フォームから 11 月 2 日までにお申し込みください。

<https://docs.google.com/forms/d/e/1FAIpQLSfVgjuWn9j-L8f-wK2AsQf0w-jQ8fkyiCh-vZzgevY6M2tMGQ/viewform>