

アンモニア酸化細菌のマルチヘム蛋白質の構造生物学

著者	福森 義宏
著者別表示	Fukumori Yoshihiro
雑誌名	平成10(1998)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	1997-1998
ページ	6p.
発行年	1999-03-01
URL	http://doi.org/10.24517/00034855



アンモニア酸化細菌の マルチヘム蛋白質の構造生物学

(研究課題番号 09660076)

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金 (基盤研究(C))

研究成果報告書

平成11年3月

金澤大学図書館蔵



8000-73546-6

著者 福森義宏

(学・理学部・教授)

金澤大学図書館蔵

アンモニア酸化細菌の
マルチヘム蛋白質の構造生物学

(研究課題番号 09660076)

平成9年度～平成10年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成11年4月

研究代表者 福森義宏
(金沢大学・理学部・教授)

免状付贈

1. はしがき

私達は、アンモニア酸化細菌 *Nitrosomonas europaea* の呼吸鎖電子伝達系について、図1のモデルを提案している。アンモニアはアンモニアモノオキシゲナーゼよりヒドロキシルアミンに酸化された後、ヒドロキシルアミン酸化酵素により亜硝酸イオンに酸化される。前者の酵素はきわめて不安定であるが、後者の酵素については、精製および遺伝子構造の解明が為され、本酵素が分子量67,000のサブユニットから成る3量体であり、各サブユニットに7分子のヘムcと1分子の新規ヘムP460が共有結合していることが明かとなっている。すなわち、酵素1分子中には、24分子のヘムが含まれていることとなり、これまで報告されているヘム蛋白質の中で最も多くのヘムを持つマルチヘム蛋白質である。また、本酵素の電子受容体であるチトクロムc-554（分子量26,000）も1分子中にヘムcを4分子持つマルチヘム蛋白質である。

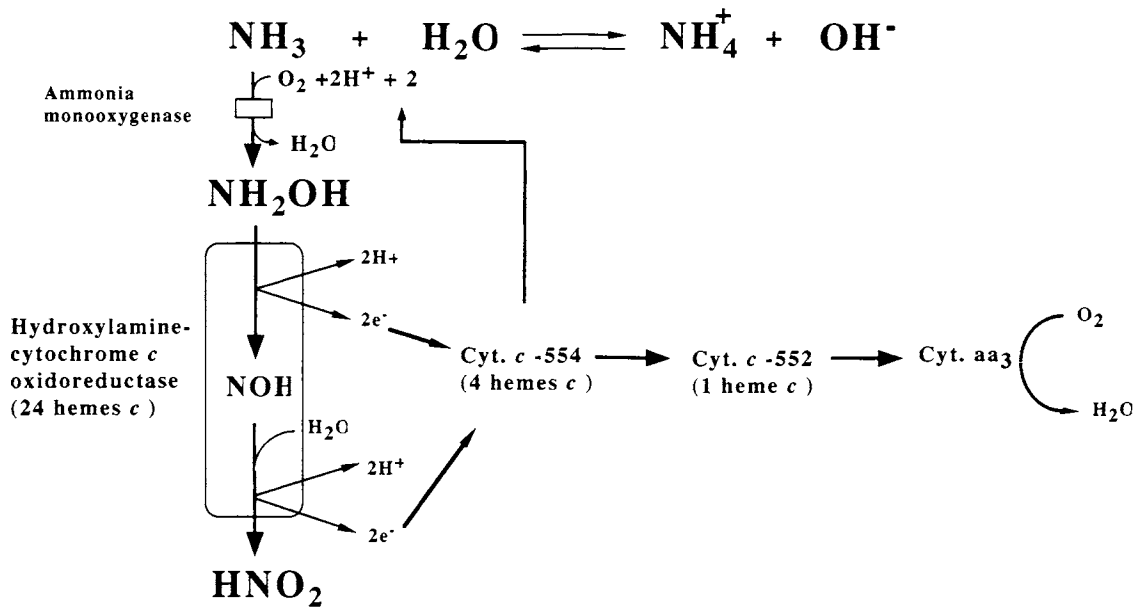


図1 *Nitrosomonas europaea*の呼吸鎖電子伝達系のモデル

一方、地球物質循環、特に窒素循環においてアンモニア酸化細菌の働きは極めて重要である。一般に、土壌や湖沼では、デトリタスから生じたアンモニアは *Nitrosomonas europaea* の様なアンモニア酸化細菌により亜硝酸イオンに酸化され、さらに亜硝酸イオンは亜硝酸酸化細菌により硝酸イオンに酸化される。そして、植物等の一次生産者が硝酸

イオンを窒素源として吸収し、物質循環が完成する。本研究は、地球物質循環の根幹であるアンモニア酸化細菌*N.europaea*の呼吸鎖電子伝達系を構成するマルチヘム蛋白質の電子伝達機構を立体構造に基づき分子レベルで解明しようとする研究であり、地球化学的な現象も原子・分子レベルでの解明が可能となったことを示す特徴ある研究である。

私達は、これまで、この2種類のマルチヘム蛋白質とチトクロムc-552の構造機能相関、特に分子内電子伝達や分子間電子伝達の機構を明らかにすることを目的に、その立体構造の解明を試みてきた。本研究では、ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の立体構造やヘムの分子内配置を、構造生物学に基づき詳細に検討するばかりでなく、その電子受容体であるチトクロムc-554およびチトクロムc-552の立体構造を明らかにし、マルチヘム蛋白質の分子内及び分子間電子伝達機構の解明を試みた。

2. 研究組織

研究代表者： 福森義宏（金沢大学・理学部・教授）

研究分担者： 田中信夫（東京工業大学・生命理工学部・教授）

3. 研究経費

平成 9年度 2,000 千円

平成10年度 1,800 千円

計 3,800 千円

4. 研究発表

(1) 学会誌等

1. Y.Noguchi, T.Fujiwara, K.Yoshimatsu, and Y.Fukumori, "Iron reductase for magnetite synthesis in magnetotactic

bacterium, *Magnetospirillum magnetotacticum*,"
J.Bact. in press(1999).

2. 五十嵐教之, 藤原健智, 福森義宏,
"ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の構造と機能,"
生化学, 70, 1998, 441-446.
3. T. Suzuki, H. Moriyama, R. Hirose, M. Sakurai, N. Tanaka,
T. Oshima, "Crystallization and preliminary X-ray
studies
on the hyperstable 3-isopropylmalate dehydrogenase from
the thermoacidophilic archaeon *Sulfolobus* sp. strain 7,"
Acta Crystallogr D Biol Crystallogr, 54, 1998, 444-445.
4. N. Igarashi, H. Moriyama, T. Fujiwra, Y. Fukumori,
N. Tanaka, "The 2.8 angstrom structure of hydroxylamine
oxidoreductase from a nitrifying chemoautotrophic
bacterium, *Nitrosomonas europaea*;"
Nature Structural Biology, 4, 1997, 276-284.
5. T. Fujii, Y. Hata, M. Oozeki, H. Moriyama, T. Wakagi,
N. Tanaka, T. Oshima, "The crystal structure of zinc-
containing ferredoxin from the thermoacidophilic archaeon
Sulfolobus sp. strain 7", *Biochemistry*, 36, 1997, 1505-1513.

(2) 口頭発表

1. 福森義宏、五十嵐教之、森山英明、藤原健智、田中信夫
「24分子のヘムcを持つヒドロキシルアミン-チトクロムc酸化還元
酵素の立体構造に基づく分子内電子伝達反応」
第71回日本生化学会大会シンポジウム、名古屋、1998年10月
2. 福森義宏
「酸素と生物のエネルギー代謝の関連」
第35回日本生物物理学会大会シンポジウム、京都、1997年10月
3. 鈴木義彦、藤原健智、福森義宏
「*Nitrobacter winogradskyi* 亜硝酸塩酸化酵素の構造」
第70回日本生化学会大会、金沢、1997年9月

- 4.吉松克彦、藤原健智、福森義宏
「磁性細菌*Magnetospirillum magnetotacticum*の亜硝酸還元酵素」
第70回日本生化学会大会、金沢、1997年9月
- 5.赤沼哲史、曲春旭、山岸明彦、田中信夫、大島泰郎
「好熱菌由来酵素のドメイン間の隙間に極性残基を導入したときの耐熱性に及ぼす影響」
第70回日本生化学会大会、金沢、1997年9月
- 6.五十嵐教之、森山英明、藤原健智、福森義宏、田中信夫
「ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の構造と機能——多ヘム電子伝達酵素が制御する電子伝達機構——」
第48回タンパク質構造討論会、金沢、1997年9月
- 7.福森義宏、五十嵐教之、森山英明、藤原健智、田中信夫
「ヒドロキシルアミン酸化還元酵素分子に存在するヘムクラスター構造」
第24回生体分子科学討論会、岡崎、1997年7月
- 8.Y. Fukumori, N. Igarashi, H. Moriyama, T. Fujiwara and N. Tanaka
The 2.8 angstrom crystal structure of hydroxylamine-cytochrome *c* oxidoreductase with 24 hemes *c*, Gordon Research Conference on Bioenergetics, Andover(USA), June/1997

(3)出版物

1. 新化学教科書シリーズ第10巻バイオケミストリー
(三浦謹一郎、渡辺公綱編) 分担、昭晃堂、1997年
2. 細胞機能と代謝マップ (日本生化学会編)
分担、東京化学同人、1997年

5. 研究成果

(平成9年度)

本研究の目的は、ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の立体構造やヘムの分子内配置を詳細に検討するばかりでなく、その電子受容体であるチトクロムc-554およびチトクロムc-552の立体構造を明らかにし、マルチヘム蛋白質の分子内及び分子間電子伝達機構の解明を試みることである。平成9年度は、これまで明かにすることができなかったヒドロキシルアミン酸化還元酵素の疎水的なC末端部分の立体構造の決定を試みた。その結果、本酵素のC末端部分は1つの構造をとるのではなく、少なくとも2種類の立体構造をとることを明かとした。この結果は、本酵素のC末端部分が細胞質膜と相互作用することにより固定されると、可溶性部分が回転（あるいは部分的移動）することを示唆する。しかしながら、これまで本酵素は可溶性蛋白質であると考えられており、細胞質膜に存在するという報告はなかった。そこで、本年度はさらに、膜結合性ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の精製を試みた。その結果、界面活性剤CHAPSの存在下、イオン交換クロマトグラフィとゲルろ過により膜結合型ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の部分精製標品を得ることに成功した。その酵素活性やサブユニット構造を可溶性ヒドロキシルアミン酸化還元酵素と比較したところ、蛋白質的性質に相違は無いが、 V_{max} は約2倍であることを見い出した。従って、本酵素はC末端部分で膜に結合することにより、高い電子伝達活性を示すことが示唆された。

(平成10年度)

ヒドロキシルアミン酸化還元酵素の反応機構に関してはヒドロキシルアミンが“NOH”を中間体として、亜硝酸に酸化されるモデルが一般に受け入れられている。すなわち、2回の2電子酸化反応が酵素分子内で迅速に進行することがきわめて重要であると考えられる。しかしながら、酵素分子に含まれる電子伝達成分は全てヘムであり、1電子伝達体である。一方、その電子受容体であるチトクロムc-554もヘムcを4分子持つマルチヘム蛋白質である。本年度は、立体構造の情報に基づきヒドロキシルアミン酸化還元酵素の電子伝達機構を明らかにすることを試みた。その結果、酵素1分子内にある8個のヘムは、ヘムクラスターを形成しており、3ヘムクラスターが1個、2ヘムクラスターが2個および1ヘ

ムが1個という形で分子内に分布していた。特に、3ヘムクラスター内の1つのヘムは基質結合部位であることから、分子内では3ヘムクラスター→2ヘムクラスター→2ヘムクラスターの2電子伝達がすみやかに進行するヘム配置が保持されていることが明らかになった。