

Title	金属酵素の活性中心形成に関わるタンパク質の構造多形研究
Sub Title	Elucidation of polymorphism of protein structure involved in the formation of active center of metalloenzyme
Author	村木, 則文(Muraki, Norifumi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	金属酵素とは活性中心に金属を利用する酵素の総称である。金属酵素の一つであるNiFeヒドロゲナーゼは水素の酸化やプロトンの還元を可逆的に触媒するため、燃料電池や水素エネルギー生産の担い手として注目されている。NiFeヒドロゲナーゼがこのような特異な反応を触媒することができるのは、活性中心にある金属クラスターのはたらきによる。NiFeヒドロゲナーゼが有する金属クラスターはニッケルと鉄から構成されており、鉄には一酸化炭素とシアニドイオンが配位している。本研究では、NiFeヒドロゲナーゼが正常に機能するために必要な鉄結合タンパク質HypDに着目して、その興味深い機能と構造の相関を明らかにすることを目指す。 これまでに結晶構造解析によって、HypDは非常にコンパクトな構造Aと熱的なゆらぎの大きい構造Bという異なる状態をとることがわかってきた。今回、一酸化炭素の供給に関わるHypXとHypDが結合した状態の構造をクライオ電子顕微鏡によって決定した。複合体中のHypDの構造は構造Aに類似していたが、構造Bと同様に部分的にフレキシブルな領域も見られた。さらに興味深いことに、複合体形成によってHypDの中心にトンネルが形成されていた。このトンネルが一酸化炭素輸送に重要であると考えて、考察を進めている。タンパク質は決まった一つの構造のみを形成するのではなく、周囲の状況に応じて構造をチューニングすることが知られており、創薬や酵素の産業利用の現場においても重要視される事象である。今回の研究成果は金属酵素の基礎的な知見となるだけでなく、構造多型研究という点でも重要な成果と言えるだろう。 Metalloenzyme is an enzyme that utilizes a metal or a metal complex in active site. NiFe hydrogenase, one of the metalloenzymes, catalyzes the oxidation of hydrogen and the reduction of protons reversibly, and are therefore expected to play important roles in fuel cells and hydrogen energy production. The metal cluster in NiFe hydrogenase is composed of nickel and iron, which coordinates carbon monoxide and cyanide ions as ligands. In this study, my target is the iron-binding and transfer protein "HypD", which is required for the function of NiFe hydrogenase. My aim is to elucidate the function and structure correlations of HypD. My previous crystallographic analyses have shown that HypD takes on two distinct states: a very compact conformation A and a thermally fluctuating conformation B. In this study, I succeeded the complex structure of HypD and HypX, which is involved in the supply of carbon monoxide, using the Cryo-EM. The structure of HypD in the HypD-HypX complex was similar to conformation A, but also showed partially flexible regions, similar to conformation B. More interestingly, a tunnel was formed in the center region of HypD by the complex formation. I consider that this tunnel has important role in the carbon monoxide transport from HypX to HypD. It is a very important idea that proteins tune their conformation in response to their surroundings. This idea is also attracting attention in the field of drug discovery and industrial applications of enzymes. The results of this research not only provide fundamental knowledge on metalloenzymes, but are also important in terms of structural polymorphism research.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230187

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	理工学部	職名	准教授（有期）	補助額	100千円 （C）
	氏名	村木 則文	氏名（英語）	Norifumi Muraki		
研究課題（日本語）						
金属酵素の活性中心形成に関わるタンパク質の構造多形研究						
研究課題（英訳）						
Elucidation of polymorphism of protein structure involved in the formation of active center of metalloenzyme						
1. 研究成果実績の概要						
金属酵素とは活性中心に金属を利用する酵素の総称である。金属酵素の一つであるNiFeヒドロゲナーゼは水素の酸化やプロトンの還元を可逆的に触媒するため、燃料電池や水素エネルギー生産の担い手として注目されている。NiFeヒドロゲナーゼがこのような特異な反応を触媒することができるのは、活性中心にある金属クラスターのはたらきによる。NiFeヒドロゲナーゼが有する金属クラスターはニッケルと鉄から構成されており、鉄には一酸化炭素とシアン化物イオンが配位している。本研究では、NiFeヒドロゲナーゼが正常に機能するために必要な鉄結合タンパク質HypDに着目して、その興味深い機能と構造の相関を明らかにすることを目指す。 これまでに結晶構造解析によって、HypDは非常にコンパクトな構造Aと熱的なゆらぎの大きい構造Bという異なる状態をとることがわかっていた。今回、一酸化炭素の供給に関わるHypXとHypDが結合した状態の構造をクライオ電子顕微鏡によって決定した。複合体中のHypDの構造は構造Aに類似していたが、構造Bと同様に部分的にフレキシブルな領域も見られた。さらに興味深いことに、複合体形成によってHypDの中心にトンネルが形成されていた。このトンネルが一酸化炭素輸送に重要であると考えて、考察を進めている。タンパク質は決まった一つの構造のみを形成するのではなく、周囲の状況に応じて構造をチューニングすることが知られており、創薬や酵素の産業利用の現場においても重要視される事象である。今回の研究成果は金属酵素の基礎的な知見となるだけでなく、構造多型研究という点でも重要な成果と言えるだろう。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
Metalloenzyme is an enzyme that utilizes a metal or a metal complex in active site. NiFe hydrogenase, one of the metalloenzymes, catalyzes the oxidation of hydrogen and the reduction of protons reversibly, and are therefore expected to play important roles in fuel cells and hydrogen energy production. The metal cluster in NiFe hydrogenase is composed of nickel and iron, which coordinates carbon monoxide and cyanide ions as ligands. In this study, my target is the iron-binding and transfer protein “HypD”, which is required for the function of NiFe hydrogenase. My aim is to elucidate the function and structure correlations of HypD. My previous crystallographic analyses have shown that HypD takes on two distinct states: a very compact conformation A and a thermally fluctuating conformation B. In this study, I succeeded the complex structure of HypD and HypX, which is involved in the supply of carbon monoxide, using the Cryo-EM. The structure of HypD in the HypD-HypX complex was similar to conformation A, but also showed partially flexible regions, similar to conformation B. More interestingly, a tunnel was formed in the center region of HypD by the complex formation. I consider that this tunnel has important role in the carbon monoxide transport from HypX to HypD. It is a very important idea that proteins tune their conformation in response to their surroundings. This idea is also attracting attention in the field of drug discovery and industrial applications of enzymes. The results of this research not only provide fundamental knowledge on metalloenzymes, but are also important in terms of structural polymorphism research.						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 （著者・講演者）	発表課題名 （著書名・演題）	発表学術誌名 （著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月 （著書発行年月・講演年月）			