

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		センサータンパク質による転写活性化機構の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Transcriptional activation mechanism of the sensor protein			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) コモリ	名) ヒロフミ	研究期間 B	2007 ~ 2009 年
	漢字 CB	小森	博文	報告年度 YR	2008 年
	ローマ字 CZ	Komori	Hirofumi	研究機関名	兵庫県立大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		兵庫県立大学 大学院生命理科学研究科 ・ 助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 生物は環境に適応するために外界のシグナルを受容し、生体内へ伝達する仕組みを持っている。一酸化炭素 (CO) をエネルギー源として生育する嫌気性微生物 <i>C. hydrogenoformans</i> は、CO 代謝にかかわる一連のタンパク質の発現を制御するシステムをもっており、そのなかで CooA タンパク質は CO 依存的に DNA の転写を制御する役割を担っている。これまでの研究の結果、既に CO の結合していない不活性型 CooA タンパク質の結晶化に成功し、ヘム鉄の異常分散を利用した SAD 法によってその結晶構造を明らかにしている。その結果、従来のヘムタンパク質では見られない特異な配位構造をもつことが明らかになっている。CooA が CO と結合することによって、ヘムの配位構造が変化し、DNA 転写調節を行っていると考えられる。 CooA の活性型の構造解析を行うために、CO 結合型のサンプル調整を行った。Ni アフィニティークラムを使用して精製後、ジチオナイトによってヘムを還元しヘパリンカラムによって還元型 CooA を精製した。これらの操作はすべて嫌気チャンバー内で行なった。光散乱測定では、酸化型と還元型 CooA に違いは見られなかったが、還元型に CO を吹き込んだサンプルでは、Dual Polarization Interferometry (DPI) 法で測定した結果、わずかに違いが見られた。結晶化のための長期間安定な CO 結合型の調整は困難であったため、CO の代わりにイミダゾールによって DNA に結合して転写活性を持つ変異体のサンプルの調整と結晶化を行った。野生型 CooA と同様に、Ni アフィニティークラムとヘパリンカラムを使用して精製した。結晶化スクリーニングを行ったが、現在のところ、結晶は得られていない。これまでの実験の結果、CooA 活性型の結晶化が困難であることが予想されるため、NMR による解析を行うためのサンプル調整を検討している。					
キーワード FA	気体分子センサー	転写制御	構造生物学	X線結晶解析	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}		発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}		発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

CooA is a CO-dependent transcription activator and transmits a CO-sensing signal to DNA promoter that controls the expression of the genes responsible for CO metabolism and has a b-type heme as the active site for sensing CO. CO binding to the heme induces a conformational change that switches CooA from inactive to active DNA-binding form. In the resting form, Ch-CooA has a six-coordinated ferrous heme with two endogenous ligands, the α -amino group of N-terminus and histidine. The N-terminus of CooA coordinated to the heme iron is replaced by CO, which presumably triggers the structural change leading to the active form. The crystal structure of Ch-CooA reveals that imidazole binds to the heme, which causes the dissociation of the N-terminus, as does CO. The dissociated N-terminus is positioned approximately 16 Å from the heme iron in the ligand bound form. In addition, the heme plane is rotated by 30 ° about the normal of the porphyrin ring and 180 ° about the meso α - γ axis compared to that found in inactive *Rhodospirillum rubrum* CooA. Though the ligand exchange and the rearrangement of the heme occur upon imidazole binding, imidazole-bound Ch-CooA remains in an inactive form. These results indicate that the release of the N-terminus resulting from imidazole binding is not sufficient to activate CooA. Apparently, a hydrogen bond between Met5 and the heme-bound imidazole restrict the complete conformational change for activation. Nevertheless, the structure provides new insights into the structural changes required to achieve activation.