

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		アコニターゼスーパーファミリーの新しい分子進化機構の解明			
研究テーマ (欧文) AZ		Elucidation of novel molecular evolution mechanism of aconitase superfamily			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)ワタナベ	名)セイヤ	研究期間 B	2016～ 2018年
	漢字 CB	渡辺	誠也	報告年度 YR	2018年
	ローマ字 CZ	Watanabe	Seiya	研究機関名	愛媛大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		愛媛大学大学院農学研究科・教授			
<p>概要 EA (600字～800字程度にまとめてください。)</p> <p>アコニターゼ X(AcnX)は、比較ゲノム解析により細菌や古細菌に広く分布するアコニターゼ-like 遺伝子だが、既知のアコニターゼ酵素の触媒反応は見られない。これに対し研究代表者は、一次構造の相同性よりもむしろゲノム上での遺伝子の位置関係に注目した結果、これまで生理学的に全く注目されていなかったシス-3-ヒドロキシ-L-プロリン(C3LHyp)のみを基質とする新規脱水酵素として機能することを見出した。これに基づいて本研究助成では、活性部位のユニークな鉄結合様式や生理学的意義の解明を行った。前者に関しては、電子スピン共鳴(ESR)と部位特異的変異体の解析から、[4Fe-4S]鉄硫黄クラスター含有アコニターゼ酵素と対照的な単核 Fe(III)の存在と、その結合部位の候補として2個のシステインと1個のグルタミン酸残基を同定した。さらに詳細な情報を得るために、構造生物学的アプローチに着手した。結晶化条件の探索を行い、SPring-8のビームラインBL38XUで高分解能X線回折データ収集に成功した。現在リファインメントを進行中だが、AcnXの活性中心には明瞭な電子密度が確認できた。これはFe(III)よりはるかに大きい[4Fe-4S]鉄硫黄クラスターのような立方体でもなく、最もよく当てはまったのは[2Fe-2S]鉄硫黄クラスターだった。これはこれまでのESRの結果と異なるだけでなく、アコニターゼファミリーとしても全く予想し得ないことだった。さらに、一次構造も基質構造も全く類似点がないのに、AcnXの立体構造はアコニターゼ酵素と驚くほど似ていた。今後はさらに解析を進め、詳細な触媒メカニズムと分子進化の知見を明らかにしていく予定である。</p>					
キーワード FA	アコニターゼ X	ヒドロキシプロリン	鉄硫黄クラスター	分子進化	

(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（下線は代表研究者、*は責任著者）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Characterization of a novel <i>cis</i> -3-hydroxy-L-proline dehydratase and a <i>trans</i> -3-hydroxy-L-proline dehydratase from bacteria.							
	著者名 ^{GA}	<u>Watanabe, S.*</u> , Fukumori, F., Miyazaki, M., Tagami, S., Watanabe, Y.	雑誌名 ^{GC}	<i>Journal of Bacteriology</i>					
	ページ ^{GF}	e00255-17	発行年 ^{GE}	2	0	1	7	巻号 ^{GD}	199
雑誌	論文標題 ^{GB}	Characterization of <i>cis</i> -4-hydroxy-D-proline dehydrogenase from <i>Sinorhizobium meliloti</i> .							
	著者名 ^{GA}	<u>Watanabe, S.*</u> , Morimoto, D., Watanabe, Y.	雑誌名 ^{GC}	<i>Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry</i>					
	ページ ^{GF}	110~113	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	82(1)
雑誌	論文標題 ^{GB}	Novel non-phosphorylative pathway of pentose metabolism from bacteria.							
	著者名 ^{GA}	<u>Watanabe, S.*</u> , Fukumori, F., Nishiwaki, H., Sakurai, Y., Tajima, K., Watanabe, Y.	雑誌名 ^{GC}	<i>Scientific Reports</i>					
	ページ ^{GF}	155	発行年 ^{GE}	2	0	1	9	巻号 ^{GD}	9
雑誌	論文標題 ^{GB}	Substrate and metabolic promiscuities of D-altronate dehydratase family proteins involved in non-phosphorylative D-arabinose, sugar acid, L-galactose, and L-fucose pathways from bacteria.							
	著者名 ^{GA}	<u>Watanabe, S.*</u> , Fukumori, F., Watanabe, Y.	雑誌名 ^{GC}	<i>Molecular Microbiology</i>					
	ページ ^{GF}	In press	発行年 ^{GE}	2	0	1	9	巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}	<u>Watanabe, S.*</u>							
	書名 ^{HC}	Handbook of Microbial Metabolism of Amino Acids Chapter 10 "Hydroxyproline Metabolism in Microorganisms"							
	出版者 ^{HB}	CAB International	発行年 ^{HD}	2	0	1	7	総ページ ^{HE}	497
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}

Aconitase X (AcnX) was initially discovered by a comparative analysis of archaeal genomes, but show no homologous reaction to known aconitase enzymes. Alternatively, I previously found that AcnX protein catalyzes the dehydration of *cis*-3-hydroxy-L-proline (C3LHyp) by focusing on the gene context in the bacterial genome, rather than the amino acid sequence similarity. Therefore, in this study, I attempted to estimate the binding mechanism of iron, and physiological role(s). As results, ESR and site-directed mutagenic study revealed that an unique Fe(III) is coordinated with two cysteine and one glutamate residues in the active center. To obtain more detailed information about the catalytic mechanism, I was successful to crystalize the AcnX, and obtain high-resolution X-ray diffraction data by using SPring-8 Beamline BL38XU. I am in progress to refine the preliminary structure, and further estimate the enzyme functions in the detail.