最近の研究から

ビルトイン補酵素をもつアミン脱水素酵素の構造研究 —新規キノン補酵素と異常な分子内架橋—

大阪市立大学大学院理学研究科 佐藤敦子, 広津 建

Atsuko SATOH and Ken HIROTSU: Structural Studies on Quinohemoprotein Amine Dehydrogenase : a Novel Quinonoid Cofactor and Multiple Intramolecular Cross-Bridges

Quinohemoprotein amine dehydrogenase (QH-AmDH) from *Pseudomonas putida* has an $\alpha\beta\gamma$ heterotrimeric structure with two heme *c* groups in the largest α subunit and an unidentified quinone prosthetic group in the smallest γ subunit.

The crystal structure of QH-AmDH has been determined at 1.9 Å resolution. This revealed a unique feature of the catalytic γ subunit with a novel cofactor cysteine tryptophylquinone (CTQ) and three intra-chain cross-links. These links are unprecedented as they are thio-ether bonds between a sulfur atom of Cys and a methylene carbon atom of an Asp or a Glu.

1. はじめに

近年, 科学技術の発展に伴い, 1 年間に報告されるタンパク質の構造の数は指数関数的に伸びている。そして, その中には翻訳後修飾によって修飾されたアミノ酸残基を含むものも, 数多く含まれている。我々は, その中でも特に「キノプロテイン」と呼ばれるものに注目した。

1979 年にメタノール資化性細菌のメタノール脱水素酵素からピロロキノリンキノン (PQQ) が発見されてから 20 年余りの月日が経つ。¹⁾ PQQ は非共有結合型の補酵素であるが, PQQ の発見以降にはポリペプチド鎖中のアミノ酸残基が翻訳後修飾をうけてできた「ビルトイン型」の補酵素 (本号, クリスタリット参照) も相次いで発見された。

1990 年には, 動物血清中の銅アミン酸化酵素からトパキノン (TPQ) が, 1991 年にはメタノール資化性細菌のメチルアミン脱水素酵素からトリプトファントリプトフィルキノン (TTQ) という 2 種類の新しいビルトイン型補酵素が相次いで構造決定された。^{2),3)} さらに, 1996 年には動物組織中のリシン酸化酵素から, 新たなビルトイン補酵素 (リシンチロシルキノン; LTQ) が発見された。⁴⁾

PQQ を含めたこれらの補酵素はすべて, アミノ酸もしくはポリペプチド鎖中のアミノ酸残基から誘導された化合物であり, *o*-もしくは *p*-キノン構造を有している (図 1)。このキノン構造が共通して酸化還元反応に関与していることから, 現在ではこれらの補酵素を含む酵素を総称して「キノプロテイン」と呼んでいる。

現在までに報告されているキノプロテインのほとんどが原核生物由来であり, グラム陰性細菌のペリプラズムに存在しているという共通点がある。⁵⁾ 本稿で述べる

図 1 キノプロテインの補酵素. (Prosthetic groups of quinoprotein.)

Pseudomonas putida 由来のアミン脱水素酵素もペリプラズムに存在する。このアミン脱水素酵素は同じペリプラズムに存在するブルー銅タンパク質アズリンを電子受容体とし, それを介してペリプラズム側から細胞膜上の呼吸鎖末端オキシダーゼに電子伝達して機能する。⁶⁾

PQQ を補酵素とする脱水素酵素には, ヘムを 1 個ないし 2 個を有する「キノヘモプロテイン」と呼ばれるものも存在する。 *Pseudomonas* 属や *Comamonas* 属由来のアルコール脱水素酵素がそうである。^{7),8)} 近年になって *Pseudomonas putida* と *Paracoccus denitrificans* から, 2 個

のヘム *c* を有するキノヘモプロテインアミン脱水素酵素 (QH-AmDH) が見つかった.^{6),9)} 我々は, *Pseudomonas putida* 由来のキノヘモプロテインアミン脱水素酵素の X 線構造に基づいて, TPQ, TTQ, LTQ に続く第 4 番目のキノン型ビルトイン補酵素システイントリプトフィルキノン (CTQ) の化学構造を明らかにした. 加えて, これまでに例のない異常な分子内架橋が CTQ を取り囲むように存在することを見出した.¹⁰⁾

2. アミン脱水素酵素

アミン脱水素酵素は, アミン類を酸化的脱アミノ化してアンモニアと相当するアルデヒドを生成する反応を触媒する. その一連の反応は以下の反応式で表される. ここで A は電子受容体タンパク質である.

TTQ を補酵素にもつものに, メチルアミン脱水素酵素 (MADH) と芳香族アミン脱水素酵素 (AADH) の 2 種類がある. MADH に関しては, *Thiobacillus versutus* 由来のものと *Paracoccus denitrificans* 由来のものの立体構造が報告されており, さらに後者に関しては MADH-アミシアニン複合体, MADH-アミシアニン-シトクロム *c* 複合体の構造解析がなされ, タンパク質同士の相互作用や電子伝達機構を解明するうえで多くの情報が提供されている.^{11)–14)}

キノヘモプロテインアミン脱水素酵素 (QH-AmDH) と, 前述のキノプロテインアミン脱水素酵素 (MADH, AADH) の間には, ヘムの有無以外にもいくつかの相違がある. MADH, AADH はその名前からわかるように, メチルアミン, 芳香族アミンに対してそれぞれ特異的に働く. 一方, QH-AmDH は, 脂肪族アミンや芳香族アミンを含めた 1 級アミンに加え (*n*-ブチルアミンに対して最も活性が高い), 2 級アミンやポリアミンをも酸化し, 幅広い基質特異性を示す.^{9),15)} また, そのサブユニット構成においても違いがみられる. QH-AmDH が $\alpha\beta\gamma$ のヘテロトリマー構造 (分子量約 110 K) なのに対し, TTQ アミン脱水素酵素は $\alpha_2\beta_2$ (分子量約 100 K) 構造をとっている. さらに, *Paracoccus denitrificans* にはキノプロテイン, キノヘモプロテイン両方のアミン脱水素酵素が存在する. 前者の電子受容体は前述のようにアミシアニンであり, 後者の電子受容体はシトクロム *c*550 と, 同じペリプラズム空間において 2 通りの電子伝達経路が存在する.¹⁶⁾

以上, TTQ 酵素との触媒化学的および物理化学的相違や種々の分析結果から, QH-AmDH には TTQ とは違うが, TTQ に似たキノン型補酵素が存在することが示唆された.^{6),9)} それゆえに, 我々は *Pseudomonas putida* 由来 QH-AmDH の構造を明らかにするとともに, ビルトイン補酵素の解明を目的として, X 線結晶構造解析を行ったのである. 以下, 特にことわりがない限り, QH-AmDH といえば *Pseudomonas putida* 由来のものを指すこととする.

3. QH-AmDH の全体構造

QH-AmDH の結晶構造は, 4 種類の水銀誘導体と 1 種類の白金誘導体から MIRAS (Multiple Isomorphous Replacement and Anomalous Scattering) 法を用いて 1.9 Å 分解能 ($R = 21.1\%$, $R_{\text{free}} = 24.5\%$) で決定した. 図 2 に全体構造を示す. α -サブユニット 494 残基, β -サブユニット 349 残基, γ -サブユニット 79 残基のアミノ酸から構成されている. 活性中心となるビルトイン補酵素を有する γ -サブユニットは, α -サブユニットのクレバス深くに存在し, さらに図下側の β -サブユニットに覆われることにより, その表面積の 7 割近くが溶媒領域から隔離されている. 以下に, サブユニットごとの特徴をまとめた.

3.1 α -サブユニット

α -サブユニット (分子量約 60 K) は, 大きく分けて 4 個のドメイン (ドメイン I–IV) から構成されている. ドメイン I は, 主に α -ヘリックスで占められており, さらに 2 個のサブドメインに分けることができる. それぞれのサブドメインにヘム *c* が 1 個ずつ共有結合しており, 両サブドメインは擬似 2 回軸によって関連づけられる (図 3). 全体として, ドメイン I は di-heme シトクロム *c* の構造によく似ている.^{17)–19)} つまり, QH-AmDH は自らの一部である α -サブユニット内に di-heme シトクロム *c* を取り込み, これを介して電子伝達を行うものと予想される.

2 個存在するヘムのうち 1 個 (Heme I) はタンパク質内に埋もれ, γ -サブユニットとの境界面に直面している. 一方, もう 1 個のヘム (Heme II) は α -サブユニットと β -サブユニットの境界面に位置し, その片面は溶媒領域に面している. 2 個のヘム鉄に配位するアミノ酸は Heme I と Heme II で異なっている. Heme I の配位子がともにヒスチジン残基 (His 104 α と His 126 α) であるのに対し, Heme II ではヒスチジン残基とメチオニン残基 (His 16 α と Met

図 2 全体構造. (Overall structure of QH-AmDH.)

図3 Di-heme モチーフ. (Di-heme Motif.)

44α) と異なっている。これは両者の酸化還元電位が異なることを意味している。

ドメインIIからIVは、ドメインIVの表面に短いα-ヘリックスが2本存在することを除けば、主にβ-構造から成り立っている。ドメインIIは、8本のアップ・ダウン逆平行β-ストランドをもつ典型的なβ-バレル構造である。ドメインIIIおよびIVは擬似バレル構造で、これらはガラクトース酸化酵素の1番目および3番目のドメインにそれぞれ似ている。ガラクトース酸化酵素は、Cys残基側鎖の硫黄原子がTyr残基の芳香環にチオエーテル結合したビルトイン補酵素を有しており、これは翻訳後修飾により生成する。^{20), 21)} 3.3節で紹介するが、QH-AmDHにもタンパク質中には大変珍しいチオエーテル結合が存在する。触媒機能がまったく違う2種の酵素において、このような共通点が見出せるということは、大変興味深い。

3.2 β-サブユニット

図2の垂直方向下から見たβ-サブユニット(分子量約40 K)の構造を図4に示す。4本のアップ・ダウン逆平行β-ストランドでできたモチーフが7個あり、これらが中心軸のまわりにはほぼ7回回転対称の関係で配置したβ-プロペラ構造になっている。このβ-プロペラ構造は、前述のガラクトース酸化酵素、それにPQQを補酵素にもつグルコース脱水素酵素やメタノール脱水素酵素、エタノール脱水素酵素、TTQを補酵素にもつメチルアミン脱水素酵素(MADH)など、ほかのキノプロテインにも共通して見られる構造である。²²⁾⁻²⁵⁾

図4 β-プロペラ構造. (7-Bladed β-propeller β-subunit.)

図5 γ-サブユニットの構造. (Structure of the catalytic γ-subunit.)

3.3 γ-サブユニット

今回の研究から明らかになった事実で、最も驚くべきはγ-サブユニットの構造であろう。γ-サブユニットはアミノ酸79残基から構成されており(分子量約9 K)、その中にCys残基を4個含んでいる。しかしながら、種々の化学的実験から、フリーのSH基やジスルフィド結合は存在しないことがわかっていった。²⁶⁾ さらに、構造決定の初期段階においては、電子密度マップの数箇所主鎖の枝分かれが見られ、モデリングに悩まされた。α-サブユニット、引き続きβ-サブユニットと、順次構築されたモデルに基づく位相改良の結果、最終的に決定したγ-サブユニットの構造が図5である。

γ-サブユニットに含まれるすべてのCys残基の側鎖は、Trp残基もしくはAsp残基かGlu残基に異常に近接しており、結論から言えばCys 37γはTrp 43γのインドール環のC4位へ、Cys 7γはGlu 16γのγ位のメチレン炭素に、Cys

27 γ , Cys 41 γ はそれぞれ Asp 33 γ , Asp 49 γ の β 位のメチレン炭素にチオエーテル結合していたのである。構造解析から得られたこれら分子内架橋の情報は、別途進められていた γ -サブユニットのマスマスペクトルを解釈するうえでおおいに役立った。

Trp 43 γ のインドール環のC6位, C7位にはTrp残基以外の電子密度が見受けられた。 γ -サブユニットにはTTQに似たキノン型補酵素が存在するという情報に基づき、我々はその余分な電子密度に酸素原子をフィッティングした。これが新規補酵素システイントリプトフィルキノン (CTQ) である (図6)。3個のチオエーテル架橋にみられるような、酸性アミノ酸残基の側鎖のメチレン炭素に硫黄が結合した構造はこれまでに例がなく、CTQ, チオエーテル架橋とともにQH-AmDHにおいて初めて報告されるものである。

γ -サブユニットの特徴は、CTQとそれを取り巻く分子内架橋だけにとどまらない。図5を見てわかるように、 γ -サブユニットは α -ヘリックスや β -シートといった一般的な二次構造をほとんどもっておらず、その大部分がターンとベンドで構成されている。DALI (三次構造の比較ができるネットワークサービス) による類似構造検索の結果、Z値が2.0を超える構造は見つからなかった。この値は、 γ -サブユニットのフォールディングが今までに報告のないフォールディングであることを示している。

すでに少し触れたが、 γ -サブユニットは α -サブユニットと β -サブユニットに挟まれるように存在している。N末端側11残基 (Ala 3 γ , Cys 7 γ -Thr 11 γ , Val 17 γ -Gly 21 γ)、C末端側29残基 (Met 51 γ -Lys 79 γ) と、79残基中40残基が溶媒領域に面してはいるが、 γ -サブユニットの表面の多くは溶媒領域から遮断されている。3個のチオエーテル架橋を含むN末端側48残基 (Ala 3 γ -Met 50 γ) の間には、数多くの水素結合が張り巡らされている。 α -ヘリックスや β -シートにみられる“能率のいい”水素結合が γ -サブユ

ニットにはほとんど存在しないにもかかわらず、 γ -サブユニットは非常にコンパクトに折りたたまれ、CTQを“かご状”に取り巻いている。このN末端側48残基に張り巡らされた“無駄のない”水素結合と3個の架橋が協同して、このような異常な構造を可能にしていると考えられる。ほかの特徴としては、C末端側と比較して、このN末端側には疎水性アミノ酸や酸性アミノ酸が数多く存在していることが挙げられる。

CTQの位置に注目してみる。 γ -サブユニットと β -サブユニットの境界面近く、 β -サブユニットの擬似7回軸上に位置している。おそらく、 γ -サブユニットと β -サブユニットの境界から基質アミンが進入してくると思われるが、CTQのC6カルボニル基が境界面のほうを向いていることから、そのことがうかがえる。また、CTQとHeme I, Heme IIの立体配置に着目してみた。基質により還元されたCTQからHeme Iを経てHeme IIに電子がわたり、さらにHeme IIから電子受容体であるアズリンに電子がわたるものと予測される。CTQのキノン部位からHeme Iまで最短距離が約7.8 Å, 2個のヘム間のFe-Fe間距離が15.8 Åである。ヘムからヘムへの電子移動が起こる距離が15~20 Åの間と言われているので、CTQからHeme Iを経てHeme IIに電子がわたるという仮説は、とりあえずのところ、この条件を満たしていると言える。Heme IIからアズリンへの電子伝達様式を解明するためにも、QH-AmDH-アズリン複合体の結晶構造解析が望まれる。

4. 活性部位

γ -サブユニットの構造を詳細に見てみると、QH-AmDHの活性部位は γ -サブユニットと β -サブユニットの境界面にある (図7A)。 γ -サブユニットからはPro 13 γ , Asp 33 γ , Pro 40 γ , Trp 42 γ のアミノ酸側鎖が、 β -サブユニットからはLeu 198 β , Phe 200 β , Trp 201 β , Phe 258 β , Tyr 298 β , Thr 341 β のアミノ酸側鎖がCTQを取り巻いている。この活性部位には水分子が2個 (W1, W2) が存在しており、W1はCTQのC6位のカルボニル基とAsp 33 γ のカルボキシル基を水素結合で架橋している。さらにAsp 33 γ のカルボキシル基はTyr 298 β のヒドロキシル基と水素結合している。もうひとつのCTQのカルボニル基とN1窒素は、Thr 10 γ の主鎖のカルボニル基とAsp 12 γ , Gly 14 γ の主鎖の窒素原子とそれぞれ水素結合している。

QH-AmDHの活性部位はMADHのそれと似ている。キャビティーの大きさはMADHに比べQH-AmDHのほうが大きく、これが両者の基質特異性の違いに表れていると考えられる。また、MADHではTTQの周りにジスルフィド結合が配置しているのに対し、QH-AmDHではチオエーテル結合がCTQを取り囲んでいるという違いはあるが、それぞれの補酵素を取り巻く環境は非常によく似ている。

図6 CTQと3個のチオエーテル架橋部位の電子密度図。
(Electron density map of the CTQ and thioether crossbridges.)

図7 QH-AmDHの活性部位. (The active site structure of QH-AmDH.)

A : 基質および阻害剤が存在しない状態

B : *p*-ニトロフェニルヒドラジン (*p*NPH) で阻害された状態

5. 反応部位の同定

CTQには2つのカルボニル基が存在するが、それでは一体どちらのカルボニル基が基質と反応するのであろうか。それを確認するために、QH-AmDHを阻害剤である*p*-ニトロフェニルヒドラジン (*p*NPH)と反応させ、その複合体の構造解析を行った。2.0 Å分解能までの回折データの収集に成功した。差フーリエマップを見てみると、CTQのC6位付近に*p*NPHに対応する電子密度を確認できた(図8)。そこで、*p*NPHをヒドラゾンの形で電子密度上にフィッティングし、精密化を行った結果、 $R = 21.1\%$ 、 $R_{\text{free}} = 25.0\%$ と良好な値を示した。

CTQの構造は、TTQの一方のトリプトファン部分をシステインで置き換えたものと考えられ、互いによく似ているといえる。それゆえに、QH-AmDHの反応機構にも、TTQを補酵素にもつMADHで提唱されているような反応機構を適用できるのではないかと考えた。²⁷⁾つまり、基質であるアミンはCTQのC6位のカルボニル基と反応し、 Schiff塩基中間体を形成するのではないかと考えたのである。

Asp 33γは、CTQのC6位のカルボニル酸素に最も近い所に位置する唯一の残基である。それは同時に、Schiff塩

図8 CTQ-*p*-ニトロフェニルヒドラジン複合体の構造. (Structure of CTQ-*p*-nitrophenylhydrazine complex.)

基を形成したときのイミン窒素に最も近いという意味でもある。言い換えれば、このAsp 33γが、CTQ-基質間に形成された Schiff塩基に隣接するアミンα-炭素からプロトンを引き抜く触媒塩基として働いていると考えられる。事実、Asp 33γの周りをみてみると、非常に疎水的な環境にある。このことは、Asp残基側鎖のカルボキシル基のpKa値を上昇させることによって、触媒機能を高めるという観点において、非常に重要である。

しかしながら、3.3節でも述べたようにAsp 33γ側鎖のメチレン炭素にはCys 27γがチオエーテル結合している。つまり、Asp 33γ側鎖のコンホメーションは、著しく制限された状態にあるということを付け加えておきたい。

4章で述べたQH-AmDHの活性部位と*p*NPHにより阻害されたQH-AmDHの活性部位を比較してみた(図7)。水2分子(W1, W2)によって占有されていた空間を、代わりに*p*NPHが占有していた。Phe 200βがわずかに傾いていたことを除けば、活性部位全体としての大きな構造変化はみられなかった。

6. おわりに

以上、*Pseudomonas putida*由来のQH-AmDHの構造について述べてきたが、時を前後して*Paracoccus denitrificans*由来のQH-AmDHの構造解析がなされ、両者の構造は互いによく似ていることが明らかとなった。²⁸⁾

本稿で取り上げたCTQを含めたビルトイン補酵素が、いつ、どこで生成されるのか。また、いかにして活性部位の特定のアミノ酸残基だけが修飾され、しかもTTQ, LTQそしてCTQの場合には同一ポリペプチド鎖内の別のアミノ酸残基との分子内架橋という修飾反応がいかにして起こるのか。今後に残された課題は多い。QH-AmDHの場合にはCTQの生成に加え、3個のチオエーテル架橋も形成されなければならない。両者の反応が同時に起こるのか、それともまったく別々に起こるのか。それは残念ながら今のところ不明である。しかしながら手掛かりがないわけではない。ここでは詳しく述べないが、QH-AmDHをコードする構造遺伝子のなかにその情報は含まれている。

ほかのビルトイン補酵素では、その翻訳後修飾機構が徐々に明らかになりつつある。TPQの生成に関しては、銅イオン存在下におけるTyr残基の自己触媒的酸化によるものであり、同じくTyr残基の誘導体であるLTQの生成機構にも、TPQの場合と同じような機構が想定されている。²⁹⁾ またTTQの生成は酵素的なものであり、それぞれの生合成にかかわる遺伝子が特定されつつある。³⁰⁾ 多岐にわたる分野で研究が繰り広げられているキノプロテイン。今後の展開が楽しみである。

謝 辞

本稿で述べたキノヘモプロテインアミン脱水素酵素の構造解析を行うにあたり、多くの方々のご協力を頂きました。アミノ酸配列を提供頂いた大阪大学産業科学研究所の金鐘根博士、岡島俊英助手、黒田俊一助教授、谷澤克行教授、そして精製酵素を提供頂いた山口大学農学部の足立収生教授に心よりお礼申し上げます。また、構造解析を行うにあたり、終始ご協力頂いた大阪市立大学理学研究科の構造生物化学研究室内の皆様に感謝致します。

文 献

- 1) S. A. Sailisbury, H. S. Forrest, W. B. T. Cruse and O. Kennard: *Nature* **280**, 843 (1979).
- 2) S. M. Janes, D. Mu, D. Wemmer, A. J. Smith, S. Kaur, D. Maltby, A. L. Burlingame and J. P. Klinman: *Science* **248**, 981 (1990).
- 3) W. S. McIntire, D. E. Wemmer, A. Chistoserdov and M. E. Lidstrom: *Science* **252**, 817 (1991).
- 4) S. X. Wang, M. Mure, K. F. Medzihradsky, A. L. Burlingame, D. E. Brown, D. M. Dooley, A. J. Smith, H. M. Kagan and J. P. Klinman: *Science* **273**, 1078 (1996).
- 5) 山田 守, 松下一信: 生化学 **71**, 413 (1999).
- 6) O. Adachi, T. Kubota, A. Hacısalihoglu, H. Toyama, E. Shinagawa, J. A. Duine and K. Matsushita: *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **62**, 469 (1998).
- 7) H. Toyama, A. Fujii, K. Matsushita, E. Shinagawa, M. Ameyama and O. Adachi: *J. Bacteriol.* **177**, 2442 (1995).
- 8) A. Oubrie, H. J. Rozeboom, K. H. Kalk, E. G. Huizinga, B. W. Dijkstra: *J. Biol. Chem.* **277**, 3727 (2002).
- 9) K. Takagi, M. Torimura, K. Kawaguchi, K. Kano and T. Ikeda: *Biochemistry* **38**, 6935 (1999).
- 10) A. Satoh, J.-K. Kim, I. Miyahara, B. Devreese, I. Vandenbergh, A. Hacısalihoglu, T. Okajima, S. Kuroda, O. Adachi, J. A. Duine, J. Van Beeumen, K. Tanizawa and K. Hirotsu: *J. Biol. Chem.* **277**, 2830 (2002).
- 11) F. M. D. Vallieux, F. Huitema, H. Groendijk, K. H. Kalk, J. Frank, J. A. Jongejan, J. A. Duine, K. Petratos, J. Drenth and W. G. J. Hol: *EMBO J.* **8**, 2171 (1989).
- 12) L. Chen, F. S. Mathews, V. L. Davidson, E. G. Huizinga, F. M. D. Vallieux and W. G. J. Hol: *Proteins Struct. Funct. Genet.* **14**, 288 (1992).
- 13) L. Chen, R. Durley, B. J. Poliks, K. Hamada, Z. Chen, F. S. Mathews, V. L. Davidson, Y. Satow, E. Huizinga, F. M. D. Vallieux and W. G. J. Hol: *Biochemistry* **31**, 4959 (1992).
- 14) L. Chen, F. S. Mathews, V. L. Davidson, M. Tegoni, C. Rivetti and G. L. Rossi: *Protein science* **2**, 147 (1993).

- 15) E. Shinagawa, K. Matsushita, K. Nakashima, O. Adachi and M. Ameyama: *Agric. Biol. Chem.* **52**, 2255 (1988).
- 16) K. Takagi, K. Yamamoto, K. Kano and T. Ikeda: *Eur. J. Biochem.* **268**, 470 (2001).
- 17) Z. W. Chen, M. Koh, G. Van Driessche, J. Van Beeumen, R. G. Bartsch, T. E. Meyer, M. A. Cusanovich and F. S. Mathews: *Science* **206**, 430 (1994).
- 18) V. Fülöp, C. J. Ridout, C. Greenwood and J. Hajdu: *Structure* **3**, 1225 (1995).
- 19) A. Kadziola and S. Larsen: *Structure* **5**, 203 (1997).
- 20) N. Ito, S. E. Phillips, C. Stevens, Z. B. Ogel, M. J. McPherson, J. N. Keen, K. D. Yadav and P. F. Knowles: *Nature* **350**, 87 (1991).
- 21) M. S. Rogers, A. J. Baron, M. J. McPherson, P. F. Knowles and D. M. Dooley: *J. Am. Chem. Soc.* **122**, 990 (2000).
- 22) A. Oubrie, H. J. Rozeboom, K. H. Kalk, J. A. Duine and B. W. Dijkstra: *J. Mol. Biol.* **289**, 319 (1999).
- 23) M. Ghosh, C. Anthony, K. Harlos, M. G. Goodwin and C. Blake: *Structure* **15**, 177 (1995).
- 24) T. Keitel, A. Diehl, T. Knaute, J. J. Stezowski, W. Hohne and H. Gorisch: *J. Mol. Biol.* **297**, 961 (2000).
- 25) L. Chen, M. Doi, R. C. Durley, A. Y. Chistoserdov, M. E. Lidstrom, V. L. Davidson and F. S. Mathews: *J. Mol. Biol.* **276**, 131 (1998).
- 26) I. Vandenbergh, J.-K. Kim, B. Devreese, A. Hacısalihoglu, H. Iwabuki, T. Okajima, S. Kuroda, O. Adachi, J. A. Jongejan, J. A. Duine, K. Tanizawa and J. Van Beeumen: *J. Biol. Chem.* **276**, 42923 (2001).
- 27) V. L. Davidson: *Principles and Applications of Quinoproteins* 73, Marcel Dekker, N. Y. (1993).
- 28) S. Datta, Y. Mori, K. Tagagi, K. Kawaguchi, Z. W. Chen, T. Okajima, S. Kuroda, T. Ikeda, K. Kano, K. Tanizawa and F. S. Mathews: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 14268 (2001).
- 29) K. Tanizawa: *J. Biochem.* **118**, 671 (1995).
- 30) M. D. Page and S. J. Ferguson: *Eur. J. Biochem.* **218**, 711 (1993).

プロフィール

佐藤敦子 Atsuko SATOH
 大阪市立大学大学院理学研究科
 Graduate School of Science, Osaka City University
 〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138
 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585,
 Japan
 TEL. 06-6605-2557, FAX. 06-6605-3131
 e-mail: satohx@sci.osaka-cu.ac.jp
 最終学歴：大阪市立大学大学院理学研究科博士課程在学中
 専門分野：蛋白質結晶学
 現在の研究テーマ：キノプロテインの構造化学

広津 建 Ken HIROTSU
 大阪市立大学大学院理学研究科
 Graduate School of Science, Osaka City University
 〒558-8585 大阪市住吉区杉本3-3-138
 3-3-138 Sugimoto, Sumiyoshi-ku, Osaka 558-8585,
 Japan
 TEL. 06-6605-2557, FAX. 06-6605-3131
 e-mail: hirotsu@sci.osaka-cu.ac.jp
 最終学歴：大阪市立大学大学院理学研究科修士課程
 専門分野：構造生物化学
 現在の研究テーマ：蛋白質の構造と機能