反応中間体構造から明らかになった電子伝達タンパク質間の酸化還元依存的な親和性調節機構

(株)バイオ産業情報化コンソーシアム 千田美紀

茨城大学工学部生体分子機能工学科 木村成伸

長岡技術科学大学工学部 生物系 福田雅夫

滋賀医科大学医学部 石田哲夫

産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研究センター 千田俊哉

Miki SENDA, Shigenobu KIMURA, Masao FUKUDA, Tetsuo ISHIDA and Toshiya SENDA: Molecular Mechanism of the Redox-dependent Interaction between NADH-dependent Ferredoxin Reductase and Rieske-type Ferredoxin

Redox-dependent affinity regulation is critical to fast and efficient electron transfer (ET) between ET proteins. The molecular mechanism of the affinity regulation, however, remains elusive due to the lack of crystal structures of the ET proteins in every redox state relevant to the ET reaction. BphA4 and BphA3 are, respectively, an FAD-containing NADH-dependent ferredoxin reductase and a Rieske-type [2Fe-2S] ferredoxin of a biphenyl dioxygenase BphA derived from *Acidovorax* sp. strain KKS102. Our biochemical study showed that the reduction of the FAD in BphA4 increases the affinity between BphA3 and BphA4 approximately 20-fold. In order to reveal the molecular mechanism of this redox-dependent affinity regulation, we determined the crystal structure of the following molecular species: BphA4 in oxidized, hydroquinone, semiquinone, and reoxidized forms; BphA3 in oxidized and reduced forms; and the ET complex of BphA3 and BphA4. A comparative analysis of these seven crystal structures obtained revealed that a series of conformational changes of BphA4 occurs upon reduction of FAD to form a high-affinity BphA3-binding site in BphA4.

1. はじめに

タンパク質分子間の電子伝達反応は、「光合成系」、「呼吸鎖」など生体内の多くの反応系に存在しており、生物の生存に必須の反応である。生体内では複数のタンパク質が電子供与体、電子受容体として働くことにより電子伝達反応が行われる。電子伝達タンパク質によって形成される電子伝達複合体の結合は弱く一過性で、その親和性は電子伝達タンパク質の酸化還元状態に依存して調節されることが知られている。^{1),2)} 酸化還元状態依存的な親和性調節の現象は、1980年代に光合成に関与する電子伝達タンパク質であるフェレドキシンとフェレドキシン還元酵素の研究により見出され、³⁾⁻⁵⁾ それ以来電子伝達研究における重要な課題となっている。これまでに、光合成に関与する植物タイプのフェレドキシンとフェレドキシン還元酵素との複合体構造など、電子伝達複合体のX線結晶構造解析が何例か報告されているが、⁶⁾⁻⁸⁾ 酸化還元状態依存的な構造変化と親和性の調節機構の関連を明らかにした例はな

い。これは、通常の好気条件下では反応中間体を取り出すことが難しく、反応中間体構造の決定が困難であることと無関係ではない。

われわれのグループでは、嫌気条件下での結晶化などの技術を駆使することでこの問題に取り組んできた。電子伝達系としては、芳香環水酸化ジオキシゲナーゼ BphA の電子伝達タンパク質である BphA3 および BphA4 を用いた。BphA はわれわれのグループで長年にわたり研究を続けてきた芳香族化合物分解系酵素群の初発酸化酵素である。本稿では、嫌気条件下での相互作用解析と反応中間体結晶の作製、そして反応中間体構造から明らかになった BphA3 と BphA4 の間の親和性調節機構について解説する。

2. 芳香環水酸化ジオキシゲナーゼ BphA

BphA は、NADH 依存的フェレドキシン還元酵素 (BphA4) とフェレドキシン (BphA3) からなる電子伝達系と、ターミナルオキシゲナーゼ (BphA1A2 複合体) から構成されている (図 1a)。⁹⁾ BphA4 は FAD を酸化還元中心として含

むホモ二量体の分子で, 酸化型, 二電子還元型, 一電子還元型の3つの酸化状態をもつ。酸化型 BphA4 は, FAD の色を反映し, 黄色い色をしている。以前に行われた酸化型の X 線結晶構造解析から, BphA4 は FAD 結合ドメイン, NADH 結合ドメイン, C 末端ドメインから構成されることが知られている (図 2)。¹⁰⁾ 一方, BphA3 は, 電子伝達に関与する Rieske 型 [2Fe-2S] クラスターを含むタンパク質で, 酸化型と還元型の2つの酸化状態をもつ。BphA3-BphA4

と類似した電子伝達系は, 主にオキシゲナーゼの構成成分として微生物などに広く分布している。¹¹⁾

3. 反応サイクルと酸化還元状態に依存したタンパク質間親和性調節

BphA3-BphA4 電子伝達系の反応機構解明を目指した速度論解析の結果, BphA4 の反応サイクルには二電子還元型と一電子還元型 (ブルーセミキノン型) が関与していることが示された。¹²⁾ 酸化型の BphA4 は, NADH からヒドリドイオン (H^-) の形で2個の電子を受け取り二電子還元型になる。二電子還元型の BphA4 は, 受け取った2個の電子を1個ずつ, 計2分子の BphA3 に伝達することができる (図 1b)。この反応サイクルの律速段階は, 一電子還元型が酸化される段階である。この反応サイクルから, 「二電子還元型の BphA4」と「酸化型の BphA3」, 「一電子還元型の BphA4」と「酸化型の BphA3」の相互作用が優先的に選ばれるような分子機構があれば, 効率の良い電子伝達が生じると考えられる。そこで, 図 1b に示すように「二電子還元型の BphA4」と「一電子還元型の BphA4」が BphA3 に対して高い親和性をもち, 「酸化型の BphA4」は BphA3 に対して低い親和性をもつという反応モデルを考えた。実際に, BphA3 と BphA4 との間にこのような親和性調節があるかどうかを確認するために, 嫌気条件下でのプルダウンアッセイおよびフロンタルゲルろ過法¹³⁾ による相互作用解析を行ったところ, 還元型 BphA4 は酸化型 BphA4 に比べて BphA3 に対して20倍ほど強い親和性をもつことが明らかになった (図 3)。¹⁴⁾ これらの知見に基づいて, 電子伝達反応サイクルに現れる BphA3 と BphA4 のすべての反応中間体, および BphA3-BphA4 複合体の結晶構造を決定し, それらの立体構造に基づき BphA3 と BphA4 の間の酸化還元状態依存的な親和性調節機構を明

図 1 (a) BphA を構成するタンパク質, (b) BphA4 の反応サイクルモデル。(Reaction cycle model of the electron transfer between BphA3 and BphA4.)

図 2 BphA4 の全体構造 (文献 14)より改変). ホモ二量体分子の単量体のみを示した。(a) は前面から, (b) は背面から見た図である。(Crystal structure of BphA4 (monomer). Front view (a) and back view (b).) 背もたれドメイン (BRD) を Sphere model で示した。FAD 結合ドメインの前面で二量体形成の相互作用をし, BphA3 は分子の背面から結合する。

図3 フロントゲルろ過法による BphA3, BphA4 の解離定数の決定。(文献 14)より改変) 黒丸は酸化状態, 白丸は還元状態を示している。(Binding curves of BphA4 for BphA3 under aerobic (filled circles) and reducing (open circles) conditions. The data were obtained by frontal gel chromatography.)

らかにすることに取り組んだ。

4. 嫌気条件下での実験技術開発と反応中間体の結晶化

本研究で得られた成果を説明する前に, 生化学実験や結晶化を嫌気条件下で行うために用いた無酸素チャンバーについて, 少し詳しく述べておきたい。本研究には, 平沢製作所製の Anaerobox ‘HARD’ という無酸素チャンバーを用いた(図4)。チャンバー内に結晶化や生化学実験に必要な機器を設置するため, いくつかの改造が加えてある。この装置は, *Acidovorax (Pseudomonas)* 属 KKS102 株由来の二原子酸素添加酵素 BphC の反応中間体結晶を嫌気条件下で調製するために設計したものである。¹⁵⁾ しかし, 電子伝達タンパク質の反応中間体(還元型, 電子伝達複合体)を単離するためには, より厳密な嫌気条件が必要であったため, チャンバーのさらなる改造や操作方法の最適化を行った。¹⁶⁾

嫌気条件を維持するために, チャンバー内は混合ガス(窒素 96 %, 水素 4 %)で満たされている。チャンバー内の残存酸素は, パラジウム触媒を用いて水素と反応させ, 水に還元して取り除かれる。この混合ガスを 1 時間に 1 分間流入することでチャンバー内の水素濃度を維持し, 酸素濃度を 100 ppm 以下に保つことが可能である。混合ガスの流入のスケジュールリングにより嫌気レベルが影響を受けるため, 運転スケジュールの決定は重要である。チャンバー内の残存酸素濃度は, シート状の anaerobic indicator (BR0055B, Oxoid) を用いることによりチェックしている。チャンバー内には, CCD 付き顕微鏡, インキュベータ, UV-vis 分光光度計などが設置されており, 生化学実験, 結晶化, 結晶の凍結まで行うことが可能である。また, Ar ガスのラインも接続されており, チャンバー内で Ar ガスを使用することも可能である。¹⁶⁾

図4 3つの部屋から構成されている無酸素チャンバーの (a) 全体図, (b) 結晶を取り扱う部分。A から試薬などを入れることができ, B のモニターで結晶を観察することができる。(The anaerobic chamber used in the present study. Overall view (a) and microscope used for crystal handling (b).)

嫌気条件下での実験において重要なのは, プラスチック製品や溶液の脱酸素である。これらの脱酸素の操作が不十分な場合には, 還元型のタンパク質が酸化されてしまうこともあるため, 注意が必要である。本研究においては, この無酸素チャンバー内で, 結晶化, 結晶の凍結, プルダウンアッセイ, UV-vis 吸収スペクトルの測定を行った。また, 特別な嫌気実験用の分光測定セルを作製し, この無酸素チャンバーと組み合わせて利用することで, 無酸素条件下での CD 測定や蛍光測定(いずれもセルをチャンバー外に持ち出しての測定)も可能となっている。

還元型の BphA3 と BphA4 および BphA3-BphA4 複合体の結晶は, この無酸素チャンバーを用いて作製した。BphA3 の還元型結晶は, ジチオナイトで還元した後に結晶化した。¹⁶⁾ BphA4 の二電子還元型結晶は, 酸化型の BphA4 結晶を嫌気条件下で NADH を含む標準母液にソーキングすることで作製した。BphA3-BphA4 の複合体は, 嫌気条件下において NADH で還元した BphA4 に酸化型の BphA3 を加え, 複合体溶液を作製したうえで結晶化した。¹⁷⁾ 嫌気条件下で得た結晶は, すべて無酸素チャンバー内で凍結し放射光実験施設にドライシッパーを用いて運搬することで, 回折強度測定を行った。

一方, BphA4 の一電子還元型に関しては, 好気条件下で酸化型結晶を 10 mM NADH 入り標準母液に 2 時間ソーキングすることで得た。好気条件下ではブルーセミキノン型 BphA4 は, 不安定であるにもかかわらず, 結晶が作製できたのは次の 2 つの理由によると考えられる。第一に, ブルーセミキノン型が酸化型に変化する過程が, BphA4 の反応の律速段階であること, 第二に, 結晶中での反応は, 溶液中に比べてきわめて遅いことである。この 2 つの理由のため, 溶液中で分光学的に観測可能なブルーセミキノンの BphA4 が実際に結晶中に蓄積したと考えている。

以上のように嫌気条件下での結晶化を新たに工夫する

ことで, BphA3 の酸化型, 還元型, 再酸化型, BphA4 の酸化型, 二電子還元型 (NADH により還元したものと, ジチオナイトにより還元したものの2種類), 一電子還元型 (ブルーセミキシ型), 再酸化型, さらに BphA3-BphA4 複合体の結晶構造を決定することに成功した. これらの結晶構造解析により, BphA4 から BphA3 への電子伝達に伴い, 各タンパク質がどのように構造変化するのか, BphA3 と BphA4 の相互作用がどのように行われるかを立体構造に基づいて議論できる基盤が確立された.

5. BphA3 と BphA4 の酸化還元依存的な立体構造変化

5.1 BphA4 の酸化還元状態依存的な構造変化¹⁴⁾

BphA4 の4つの酸化還元状態 (酸化型, 二電子還元型, 一電子還元型, 再酸化型) の結晶構造を 1.4 ~ 1.7 Å 分解能の高分解能で決定した結果, いくつかの興味深い構造変化を見出すことができた. まず, BphA4 中の FAD のイソアロキサジン環は, 反応の進行に伴い蝶が羽ばたくような “バタフライ型” の構造変化をしていることが明らかになった (図 5a). 次に, 二電子還元型, 一電子還元型において, リビチル鎖のフリップが観察された (図 5b). これは, イソアロキサジン環の N10 原子が sp^3 型の構造をとることによって生じる変化と考えられる. さらに, NADH から FAD の N5 原子 ($N5_{FAD}$) にヒドリドが転移し FAD が二電子還元されると, 酸化型 BphA4 に存在する $N5_{FAD}$ と

Lys53 の $N\zeta$ 原子の間の水素結合が消失することがわかった (図 6a). リビチル鎖のフリップ, FAD のイソアロキサジン環の構造変化, そして Lys53 と FAD 間の水素結合の消失は, FAD が再酸化されることにより酸化型と同じ状態に戻ることから, いずれも酸化還元状態に依存した可逆的な構造変化であると考えられる.

全体構造も酸化還元状態の変化に伴い変化することが明らかになった. 結晶構造を決定した4状態の BphA4 の構造を FAD 結合ドメインで重ね合わせて比較したところ, 二電子還元型および一電子還元型では, NADH 結合ドメインと C 末端ドメイン (NADH/CT ドメイン) が, ほぼ剛体として約 1.5 度回転していることが見出された (図 5c). この構造変化は, FAD の再酸化によって解消することから, FAD の構造変化と同様に可逆的な構造変化である. このドメインの回転はジチオナイトで還元した BphA4 でも見られるため, NAD の結合による影響とは考えられない.

5.2 構造変化が生じるメカニズム¹⁴⁾

5.1 節で述べた, 部分的な構造変化と全体構造の変化はどのように関係づけられるのであろうか? 得られた酸化型, 二電子還元型, 一電子還元型の BphA4 の構造の詳細な比較により, FAD の還元に伴う FAD と周辺残基の構造変化が全体構造の変化を引き起こすことが明らかになった. まず, $N5_{FAD}$ 原子と Lys53 の側鎖の間の水素結合が切れることで, FAD 結合ドメイン中のサブドメインである背もたれドメイン (Lys53 はこのサブドメイン内にある) の運

図5 酸化還元状態に依存して生じる BphA4 の構造変化 (文献 14)より改変). (Redox-dependent conformational changes of BphA4 (I).) (a) イソアロキサジン環のバタフライ型の構造変化. (b) 二電子還元型と一電子還元型ではリビチル鎖がフリップしている. (c) 酸化還元状態の変化により生じる NADH 結合ドメイン (白色) と C 末端ドメイン (濃いグレー) の回転. 黒い線は FAD のイソアロキサジン環を示す.

図6 FADのまわりで生じる酸化還元状態依存的な構造変化 (文献14)より改変). (Redox-dependent conformational changes of BphA4 (II).) (a) 矢印の向きは酸化型から一電子還元型への変化に伴って生じる構造変化を示す. (b) NADH結合ドメインとC末端ドメインの回転を引き起こす背もたれドメイン (BRD) などの構造変化. α_3 , α_4 は NADH 結合ドメイン内の α -ヘリックスを示す.

動性が高くなると考えられる. 還元によりこの部分の運動性が上昇することは, 還元型や Lys53Met 変異体 BphA4 に対するプロテアーゼによる限定分解の結果からも示唆された. これと同時にリビチル鎖がフリップすることで, リビチル鎖の C1* 原子と背もたれドメイン内の Pro49 との間に反発が生じて (図 6a), 運動性の上昇した背もたれドメインは分子後方へ移動する. そして, この背もたれドメインの構造変化と連動して NADH 結合ドメイン中のヘリックスの位置が変化し, NADH 結合ドメインと C 末端ドメインの回転が起きると考えられる (図 6b).

5.3 BphA3 の酸化還元状態依存的に生じる構造変化¹⁴⁾

BphA3 においても, 酸化還元依存的な構造変化が見出された. BphA3 では, 還元に伴って [2Fe-2S] クラスタに近接する Gly46 と Glu47 の間のペプチド結合がフリップし, Glu47 の側鎖が大きく移動することがわかった. 還元型 BphA3 結晶を再酸化して構造解析を行った結果, Gly46 と Glu47 の構造が酸化型と同じ構造に変化することが確認できたことから, このペプチド結合のフリップは酸化還元状態の変化に伴う可逆的な構造変化であると考えられる. 同様のペプチド結合のフリップは, ほかのフェレドキシンやプチダレドキシンでも報告されている.^{18),19)} これらの変化は, 還元型 [2Fe-2S] クラスタの負電荷が近接するカルボニル基の負電荷と反発するために生じる構造変化であると考えられている.

図7 BphA3-BphA4 複合体の全体構造 (文献14)より改変). (Overall structure of the BphA3-BphA4 complex.) 二量体の BphA4 の片方だけに BphA3 が結合している.

6. BphA3-BphA4 複合体の全体構造¹⁴⁾

BphA3-BphA4 複合体の結晶構造解析から, 少なくとも結晶中では, BphA4 二量体の片側のサブユニットだけに BphA3 が結合していることが明らかになった (図 7). また, BphA3 の結合部位は BphA4 の FAD 結合ドメインと C 末端ドメインから構成されていることがわかった. BphA4 中に存在する FAD が還元されることにより, NADH/CT ドメインが FAD 結合ドメインに対して回転することを考えれば, この回転により BphA3 結合部位の構造が変化することは明らかである. この構造変化の連鎖が親和性調節機構と密接に関与していることは容易に想像できる.

7. BphA3 と BphA4 との間の親和性調節機構¹⁴⁾

実際に, 今回決定した反応中間体構造と複合体構造を組み合わせて考えることで, FAD の酸化還元状態の変化が, どのように親和性調節機構とかかわっているかを原子のレベルで説明できる. まず, 酸化型 BphA4 を BphA3-BphA4 複合体中の BphA4 に重ね合わせてみると, 酸化型 BphA4 の Ala371 と, BphA3 のアミノ酸残基 Trp48, Ser64, Leu65 が形成する小さな疎水的なポケットとの間に立体障害が生じてしまう. この立体障害により酸化型 BphA4 は BphA3 に対して低い親和性しかもたないことが説明できる (図 8a, 図 9-1). しかし, BphA4 が還元されて NADH/CT ドメインが回転することにより, Ala371_{BphA4} が 1 Å 以上移動して BphA3 と BphA4 の間の立体障害が回避されることがわかった (図 8a, 図 9-2). 複合体中の BphA4 の NADH/CT ドメインは, 二電子還元型および一電子還元型 BphA4 と同じ方向に約 3° 回転していることがその結晶構造からわかっている. このことは, NADH/CT ドメインの回転により BphA4 分子上に BphA3 に対する高親和性サイトが形成されることを示唆している.

BphA4 からの電子を受け取り BphA3 が還元された後,

図8 (a) BphA4のBphA3に対する親和性を調節すると考えられる Ala371_{BphA4} 周辺の構造変化. 酸化型 (ox, グレー) では BphA3 との間に立体障害が生じるが, 二電子還元型 (rd) や一電子還元型 (sq) (黒) では, この立体障害が解消される. (b) 電子伝達に伴って生じると考えられる BphA3 の構造変化. 複合体中の BphA3 に単体で解析した酸化型 (ox) と還元型 (rd) の構造を重ね合わせた. BphA3 が還元されることで, Arg327_{BphA4} と Glu47_{BphA3} の相互作用が解消されることが示唆される. 矢印は BphA3 が酸化型から還元型に変化するとき生じると予想される BphA3 の構造変化の向きを示す. (Conformational changes of BphA4 and BphA3 in the BphA3-BphA4 complex.)

還元された BphA3 は BphA4 から解離する必要がある. この親和性の変化は BphA3 の酸化還元状態変化によって起きる構造変化と関係していると考えるのが理にかなっている. そこで, BphA3 で観察された Gly46_{BphA3}–Glu47_{BphA3} 間のペプチド結合のフリップに注目した. BphA3-BphA4 複合体構造中の BphA3 は還元型であったため, BphA3 が酸化型である場合 (電子を受け取る前) に, どのように BphA4 と相互作用しているかを, 酸化型 BphA3 の構造を複合体中の BphA3 に対して重ね合わせることで推定した. その結果, 還元型 BphA4 と酸化型 BphA3 の複合体中では, Arg327_{BphA4} と Glu47_{BphA3} が静電相互作用していることが示唆された (図 8b, 図 9-3). しかし, BphA3 が電子を受け取って還元されると Gly46_{BphA3}–Glu47_{BphA3} 間のペプチド結合がフリップするため, Glu47_{BphA3} の側鎖の向きが大きく変化し, この相互作用は消失してしまう (図 8b, 図 9-4). この静電相互作用の消失が, 還元型 BphA3 が BphA4 から解離するのを促進する 1 つの原因になっていると考えられる (図 9-5).

二電子還元型の BphA4 が 2 分子の BphA3 に 1 個ずつ電子を伝達して, BphA4 が再酸化型になると, NADH 結合ドメインと C 末端ドメインは元の位置 (酸化型 BphA4 で観察される位置) に戻り, BphA3 に対する高親和性サイトは消失する (図 9-6).

8. 終わりに

本研究では電子伝達反応中間体の X 線結晶構造解析を詳細に行うことで, BphA3 と BphA4 の間の親和性の調節機構を, 両者の酸化還元状態依存的な構造変化により説明することができた. 最初の反応が構造変化を引き起こし,

図9 BphA4のBphA3に対する親和性変化に関与する構造の変化を模式的に示した. (Proposed mechanism of the redox-dependent affinity regulation between BphA3 and BphA4.) NADH 結合ドメインと C 末端ドメインの回転, Ala371_{BphA4} と BphA3 との相互作用, Arg327_{BphA4} と Glu47_{BphA3} の相互作用が親和性調節に重要であることがわかった. BphA4 の 4 つの酸化還元状態: 酸化型, 二電子還元型, 一電子還元型, 再酸化型を A4 (ox), A4 (rd), A4 (sq), A4 (re-ox), BphA3 の 2 つの酸化還元状態: 酸化型, 還元型を A3 (ox), A3 (rd) で示す.

さらにその構造変化が次の反応を引き起こすというよう
な構造変化と化学反応の連鎖が両者の親和性調節機構の
キーポイントであることがわかってきた。今回示した
BphA3とBphA4の間の親和性調節機構は、原子レベルの
構造に基づき電子伝達タンパク質間の親和性調節を説明
する初めてのモデルである。今後、本研究で確立した嫌気
条件下での結晶化などの技術を応用することで、類縁タン
パク質の電子伝達に関係する中間体構造が解明され、ほか
の電子伝達系においても電子伝達タンパク質間の親和性
調節に関する知見が蓄積していくと考えている。

文 献

- 1) M. Prudencio and M. Ubbink: *Journal of Mol. Recognit.* **17**, 524 (2004).
- 2) P. B. Crowley and M. A. Carrondo: *Proteins* **55**, 603 (2004).
- 3) C. J. Batie and H. Kamin: *J. Biol. Chem.* **256**, 7756 (1981).
- 4) C. J. Batie and H. Kamin: *J. Biol. Chem.* **259**, 8832 (1984a).
- 5) C. J. Batie and H. Kamin: *J. Biol. Chem.* **259**, 11976 (1984b).
- 6) G. Kurisu, *et al.*: *Nat. Struct. Biol.* **8**, 117 (2001).
- 7) R. Morales, *et al.*: *EMBO Rep* **1**: 271 (2000).
- 8) J. J. Müller, A. Lapko, G. Bourenkov, K. Ruckpaul and U. Heinemann: *J. Biol. Chem.* **276**, 2786 (2001).
- 9) M. Fukuda, *et al.*: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **202**, 850 (1994).
- 10) T. Senda, *et al.*: *J. Mol. Biol.* **304**, 397 (2000).
- 11) J. R. Mason and R. Cammack: The electron-transport proteins of hydroxylating bacterial dioxygenases. *Annu. Rev. Microbiol.* **46**, 277 (1992).
- 12) S. Kishigami, M. Yamazaki, T. Senda, M. Fukuda and S. Kimura: "Flavins and Flavoproteins 2005", ArchiText inc., 509. (T. Nishino, R. Miura, M. Tanokura and K. Fukui eds) (2005).
- 13) M. Honjo, T. Ishida and K. Horiike: *J. Biochem.* **122**, 258 (1997).
- 14) M. Senda, S. Kishigami, S. Kimura, M. Fukuda, T. Ishida and T. Senda: *J. Mol. Biol.* **373**, 382 (2007).
- 15) N. Sato, *et al.*: *J. Mol. Biol.* **321**, 621 (2002).
- 16) M. Senda, S. Kishigami, S. Kimura and T. Senda: *Acta Crystallogr.* **F63**, 311 (2007).
- 17) M. Senda, S. Kishigami, S. Kimura and T. Senda: *Acta Crystallogr.* **F63**, 520 (2007).
- 18) I. F. Sevrioukova: *J. Mol. Biol.* **347**, 607 (2005).
- 19) R. Morales, *et al.*: *Biochemistry* **38**, 15764 (1999).

プロフィール

千田美紀 Miki SENDA
(株)バイオ産業情報化コンソーシアム
Japan Biological Informatics Consortium (JBIC)
〒135-0064 東京都江東区青海2-42
2-42 Aomi, Koto-ku, Tokyo 135-0064, Japan
e-mail: miki-senda@aist.go.jp
最終学歴：長岡技術科学大学大学院 生物機能工
学専攻修了
専門分野：タンパク質の結晶化
現在の研究テーマ：嫌気条件下での結晶化、電子
伝達タンパク質のX線結晶構造解析
趣味：食べ歩き

木村成伸 Shigenobu KIMURA
茨城大学工学部 生体分子機能工学科
Department of Biomolecular Functional Engineering,
Faculty of Engineering, Ibaraki University
〒316-8511 茨城県日立市中成沢町4-12-1
4-12-1 Nakanarusawa, Hitachi, Ibaraki 316-8511,
Japan
e-mail: s-kimura@mx.ibaraki.ac.jp
最終学歴：東北大学大学院理学研究科
専門分野：タンパク質科学, タンパク質工学
現在の研究テーマ：電子伝達タンパクの構造と機能
趣味：Classic音楽を聴くこと、娘に遊んでもら
うこと

福田雅夫 Masao FUKUDA
長岡技術科学大学工学部 生物系
Department of BioEngineering, Nagaoka University
of Technology
〒940-2188 新潟県長岡市上富岡町1603-1
1603-1 Kamitomioka-cho, Nagaoka, Niigata 940-
2188, Japan
e-mail: masao@vos.nagaokaut.ac.jp
最終学歴：東京大学大学院農学系研究科
専門分野：応用微生物学
現在の研究テーマ：環境微生物の多様な酵素系の解
明と利用をめざしています。酵素タンパク質の立体
構造からゲノム解析まで興味が尽きない世界です。
趣味：音楽鑑賞、清酒鑑賞?

石田哲夫 Tetsuo ISHIDA
滋賀医科大学医学部 生化学・分子生物学講座 (分
子生理化学部門)
Department of Biochemistry and Molecular Biology,
Shiga University of Medical Science
〒520-2192 滋賀県大津市瀬田月輪町
Seta, Ohtsu, Shiga 520-2192, Japan
e-mail: teishida@belle.shiga-med.ac.jp
最終学歴：1984年大阪大学医学部医学科卒業
専門分野：生化学
現在の研究テーマ：タンパク質ーリガンド相互作
用をミクロスケールで自動精密解析する方法の開
発とその応用。また、溶液中の酸素分子を自動測
定・制御する方法を開発し酸化還元酵素の研究に
応用すること。
趣味：読書と散歩

千田俊哉 Toshiya SENDA
産業技術総合研究所 バイオメディシナル情報研
究センター
Biomedical Information Research Center (BIRC),
National Institute of Advanced Industrial Science
and Technology (AIST)
〒135-0064 東京都江東区青海2-42
2-42 Aomi, Koto-ku, Tokyo 135-0064, Japan
e-mail: toshiya-senda@aist.go.jp
最終学歴：長岡技術科学大学大学院博士後期課程
専門分野：タンパク質結晶学
現在の研究テーマ：スケレオソーム構造変換機構
の解明、酸化還元酵素の反応機構解明
趣味：美術鑑賞