

報道解禁日時：

日本時間 2016 年 4 月 29 日（金）午前 3 時



国立大学法人

九州工業大学

平成 28 年 4 月 27 日

報道関係各位

国立大学法人九州工業大学

～新しい抗菌薬の分子設計へ大きな前進～

## 世界初！ 微生物特有の「呼吸酵素」の精密立体構造を解明

九州工業大学大学院情報工学研究院/生命情報工学研究系の坂本順司教授とドイツ マックスプランク研究所の H. ミケル教授の共同研究により、世界で初めて微生物特有の「呼吸酵素」の精密立体構造を解明しました。

この研究成果は、創薬・医療分野での応用、特に結核菌や新興感染症の病原菌の「息の根を止める」新しい治療薬の開発に貢献することが期待されます。

なお、本共同研究論文は、4月29日（金）発行の米国の学術誌「Science」（6285号）に掲載されます。（報道解禁日時：日本時間 2016 年 4 月 29 日（金）午前 3 時）

「呼吸酵素」とは、動物や微生物の細胞にあって、生命活動に必要なエネルギーを食物の栄養分から抽出する酵素です。この酵素は、呼吸で取り入れた気体の酸素によって糖質や脂質を酸化する反応で、エネルギーを獲得します。これまで呼吸酵素のうち、ヒトなどのミトコンドリアにある「ヘム銅酸化酵素」という分子の研究は進んでいて、日本の研究者も大きく貢献してきました。今回坂本教授らが精密な立体構造を世界で初めて解明したのは、微生物に特有な「シトクロム *bd* 型酸化酵素」という分子です。

この *bd* 型酵素は、結核菌やジフテリア菌・大腸菌などの病原菌を含む多くの微生物の生存や増殖に必要なタンパク質分子であり、その最初の発見も我が国でなされました。今回の研究は、X 線結晶構造解析という手法で、この酵素の原子レベルの立体構造を解いたものです。ベールを脱いだその構造は、ヘム銅酸化酵素とも、その他すべてのタンパク質分子とも似ていない、ユニークなものでした。その座標データを元に、バイオインフォマティクス手法を用いれば、創薬・医療分野での応用が期待されます。結核は今でも、世界で毎年百万人単位の犠牲者を出す世界 3 大感染症の 1 つです。また大腸菌 O-157 などによる「新興感染症」もたびたび出現しています。微生物特有の *bd* 型酵素にはピッタリ当てはまるが、ヒトや家畜の呼吸酵素には悪影響のない分子を設計することにより、病原菌の「息の根を止める」新しい治療薬の選択肢を開発しうるでしょう。

この酵素がそれほど重要であるにもかかわらず、これまで立体構造が一つも解かれてい

なかった理由は、構造解析に必要な単離や結晶化の難しい不安定な「膜タンパク質」という特殊なタイプの酵素だったことが一因です。坂本教授は、高温環境に生息する「好熱菌」という微生物に着目し、熱安定性の高い膜酵素を研究のターゲットにしてみました。また共同研究者のミケル教授は、世界で初めて光合成の膜タンパク質の精密構造を解明し、1988年にノーベル化学賞を受賞したX線結晶構造解析の専門家です。この独自の研究対象と高度な研究技術の組み合わせが、世界初の成功を可能にしたと考えられます。

本研究は、日本学術振興会 科学研究費補助金 基盤研究 等の支援を受けて実施しました。

論文名：Structure of a *bd* Oxidase Indicates Similar Mechanisms for Membrane-integrated Oxygen Reductases (*bd*型酸化酵素の構造は、膜内在性の酸素還元酵素に共通な反応機構を示す)

発表雑誌：Science

著者：Schara Safarian, Hannelore Müller, Chitra Rajendran, Julia Preu, Julian D. Langer, Sergey Ovchinnikov, Taichiro Hirose, Tomoichirou Kusumoto, Junshi Sakamoto, Hartmut Michel

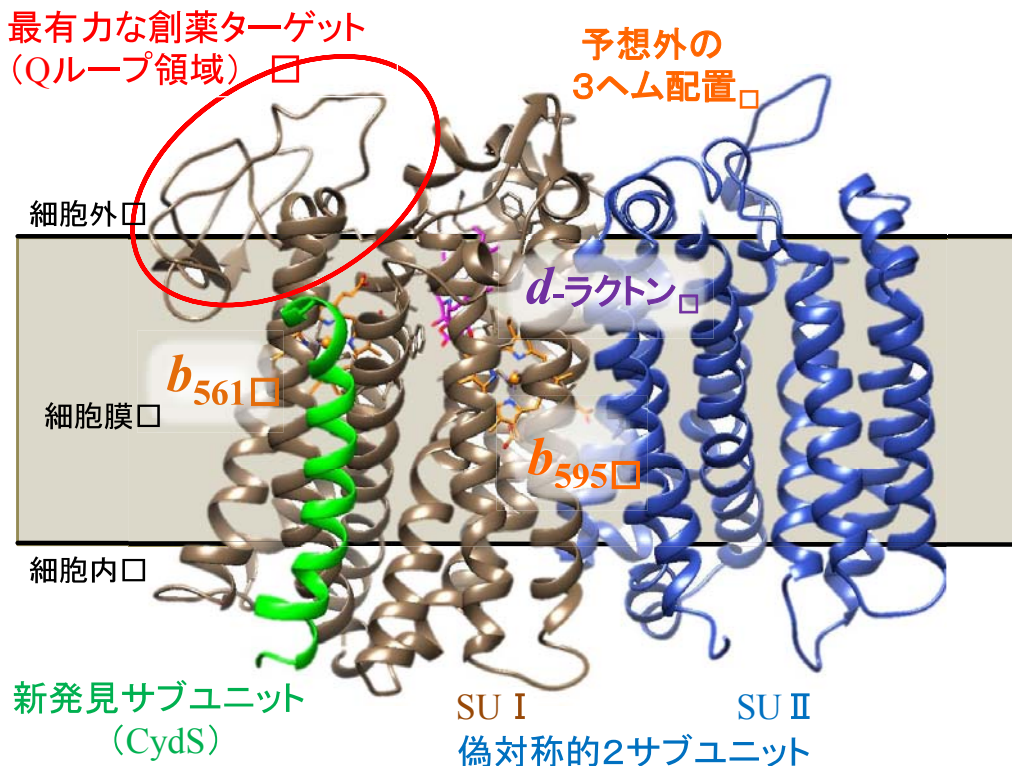
(本件お問い合わせ先)

九州工業大学 大学院情報工学研究院

生命情報工学研究系 教授 坂本 順司

E-mail: sakamoto@bio.kyutech.ac.jp

TEL:0948-29-7823



## 別紙

この研究についてご意見を伺える方:

北 潔 先生 (KITA Kiyoshi)

長崎大学大学院熱帯医学・グローバルヘルス研究科

〒852-8523 長崎県長崎市坂本1-12-4

電話: 095-819-7575

ファックス: 095-819-7892

E-mail: [kitak@nagasaki-u.ac.jp](mailto:kitak@nagasaki-u.ac.jp) ( [kitak@m.u-tokyo.ac.jp](mailto:kitak@m.u-tokyo.ac.jp) )

\* *bc*型酵素を世界で初めて(大腸菌から)発見なさった方で、寄生虫や病原菌の呼吸酵素を幅広くご研究されているとともに、それに基づく創薬でご業績が深い研究者です。長く勤められた東京大学医学部をこの3月末に定年退職なさいました。

沈 建仁 先生 (しん けんじん、Jian-Ren Shen)

岡山大学大学院自然科学研究科(理学部)

〒700-8530 岡山市北区津島中3-1-1

電話: 086-251-8502

ファクス: 086-251-8502 (電話番号と同じ)

E-mail: [shen@cc.okayama-u.ac.jp](mailto:shen@cc.okayama-u.ac.jp)

\* 光合成ではたらく膜タンパク質のX線結晶構造解析のご権威です。特に近年、水分解を触媒するマンガンクラスターの詳細な立体構造を明らかにされ、人工光合成への応用などの観点からも注目を集めています。

松下 一信 先生 (Kazunobu Matsushita)

山口大学農学部生物機能科学科

〒753-8515 山口市吉田1677-1

電話: 0839-33-5858

ファックス: 0839-33-5859

E-mail: [kazunobu@yamaguchi-u.ac.jp](mailto:kazunobu@yamaguchi-u.ac.jp)

\* 酢酸菌など発酵生産で働く有用菌のエネルギー代謝の研究でご業績の深い研究者で、微生物の呼吸酵素の研究を長く先導してこられました。

# 世界初！ 微生物特有の「呼吸酵素」の 精密立体構造を解明

～新しい抗菌薬の分子設計へ大きな前進～

九州工業大学 大学院情報工学研究院  
生命情報工学研究系 教授 坂本 順司

-1-

The whole world is reading pirated papers pp. 497 & 508

Neurochemistry of sleeping and waking pp. 517 & 550

Halogenated olefins via the E train p. 669

Science

\$15  
29 APRIL 2016

AAAS

STRUCTURAL BIOLOGY

## Structure of a bd oxidase indicates similar mechanisms for membrane-integrated oxygen reductases

Schara Safarian,<sup>1</sup> Chitra Rajendran,<sup>1\*</sup> Hannelore Müller,<sup>1</sup> Julia Preu,<sup>1</sup> Julian D. Langer,<sup>1†</sup> Sergey Ovchinnikov,<sup>2</sup> Taichiro Hirose,<sup>3</sup> Tomoichirou Kusumoto,<sup>3</sup> Junshi Sakamoto,<sup>3</sup> Hartmut Michel<sup>1‡</sup>

The cytochrome bd oxidases are terminal oxidases that are present in bacteria and archaea. They reduce molecular oxygen (dioxygen) to water, avoiding the production of reactive oxygen species. In addition to their contribution to the proton motive force, they mediate viability under oxygen-related stress conditions and confer tolerance to nitric oxide, thus contributing to the virulence of pathogenic bacteria. Here we present the atomic structure of the bd oxidase from *Geobacillus thermodenitrificans*, revealing a pseudosymmetrical subunit fold. The arrangement and order of the heme cofactors support the conclusions from spectroscopic measurements that the cleavage of the dioxygen bond may be mechanistically similar to that in the heme-copper-containing oxidases, even though the structures are completely different.

-2-

# 今日の話題

## 1. 研究分野:

細胞呼吸はバイオエネルギー獲得系

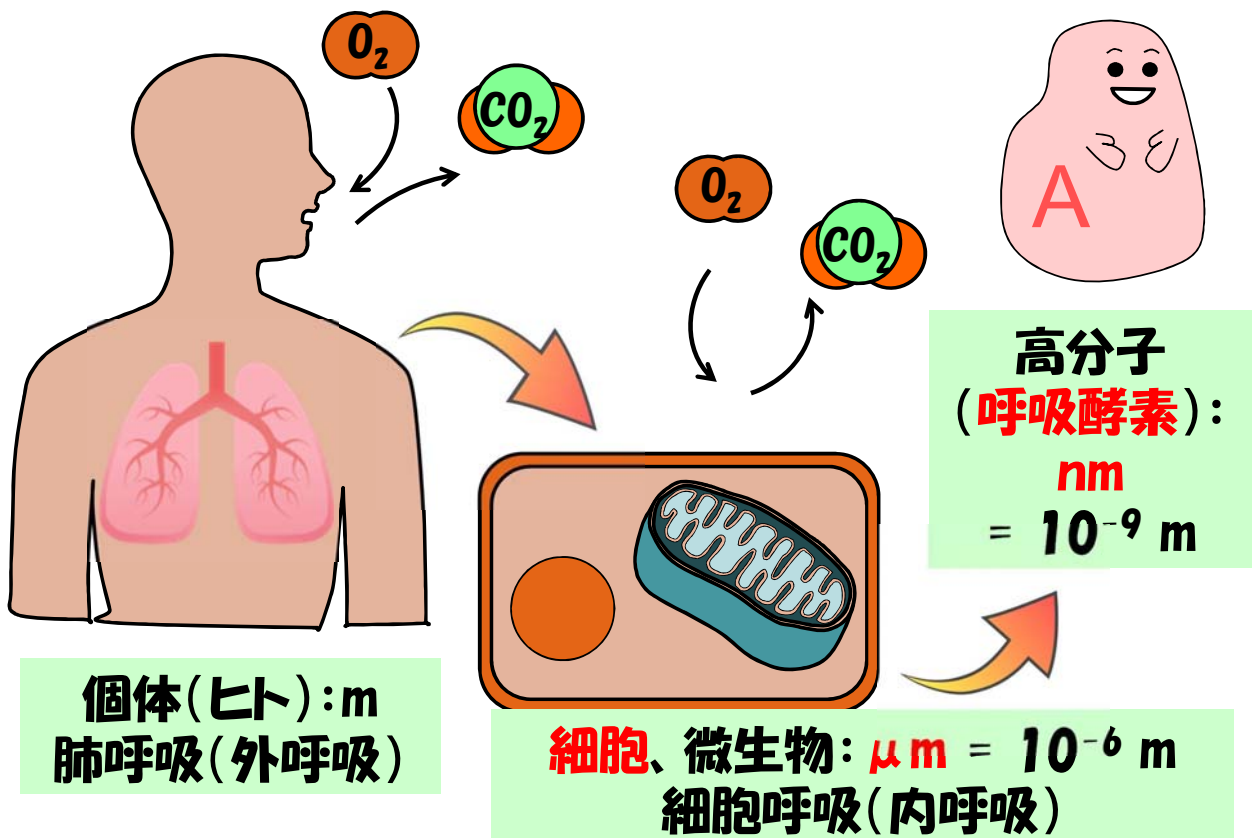
## 2. これまでの研究経過:

微生物の「呼吸酵素」の多様性

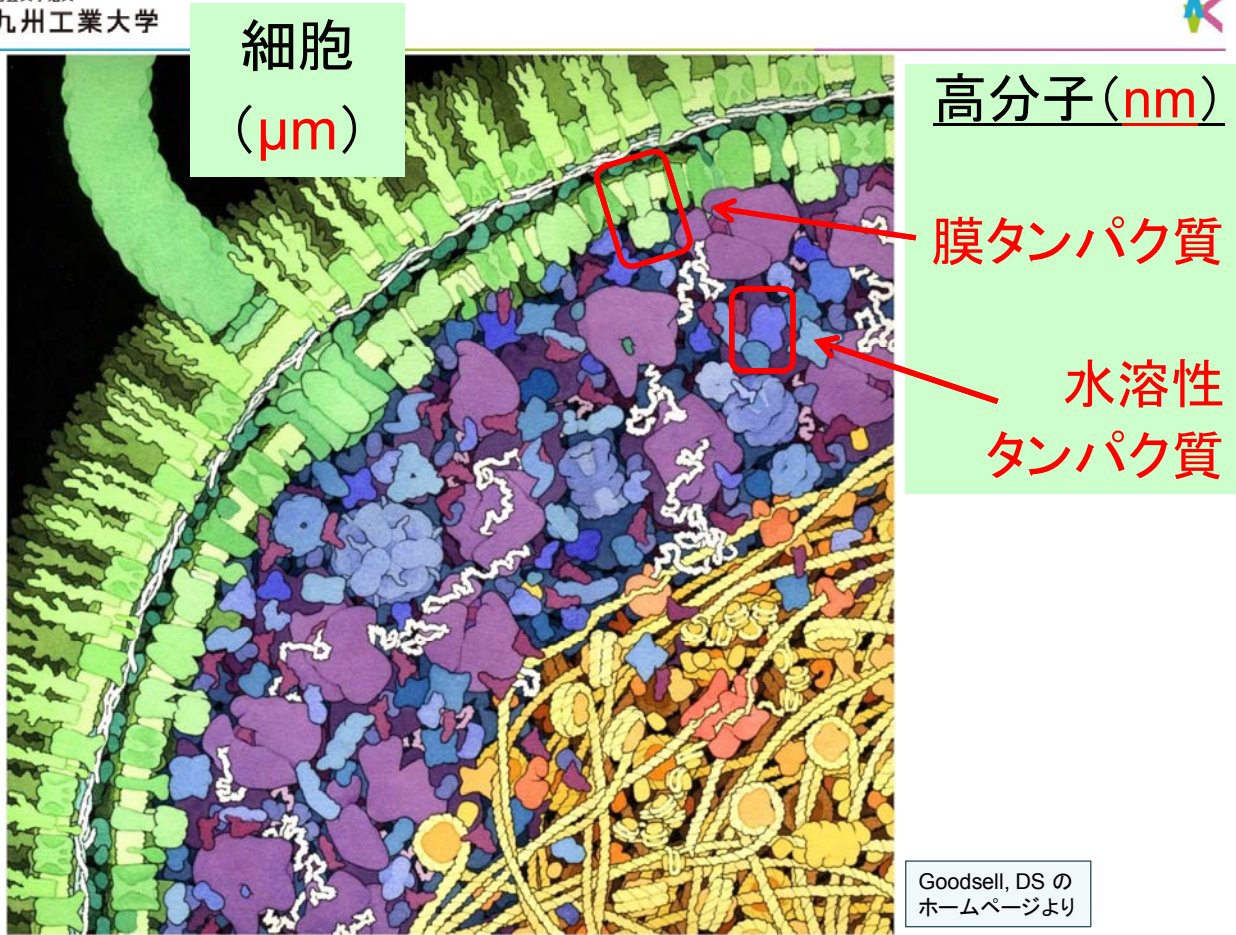
## 3. 今回の成果:

シトクロム $bd$ 型呼吸酵素の精密な  
立体構造を解明

-3-



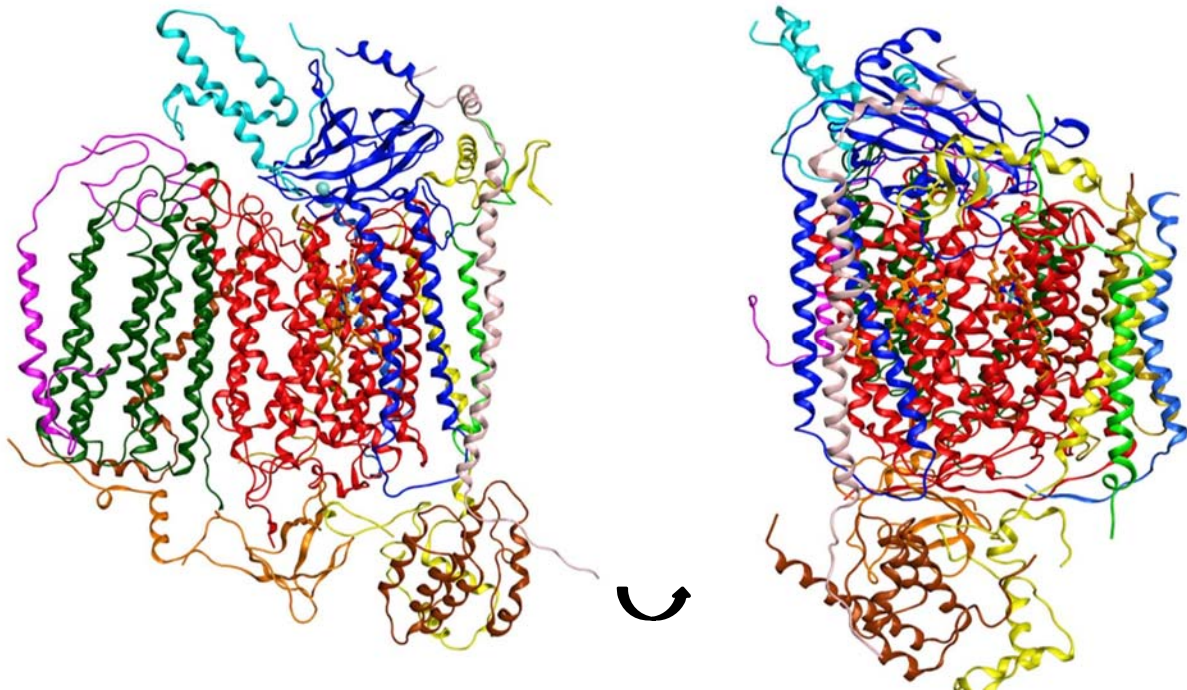
-4-



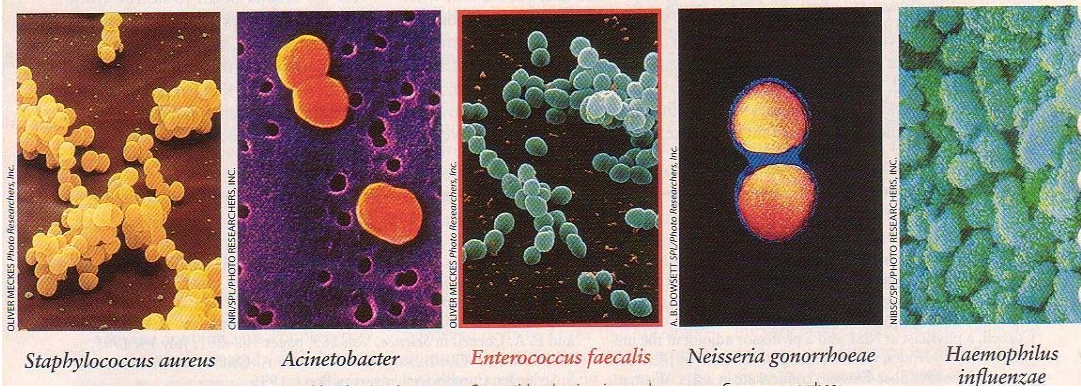
膜タンパク質の一種である「呼吸酵素」が、細胞のエネルギー獲得で主役を務める。



ヒト型(ヘム銅)呼吸酵素の立体構造は、  
21年前にすでに解かれた。

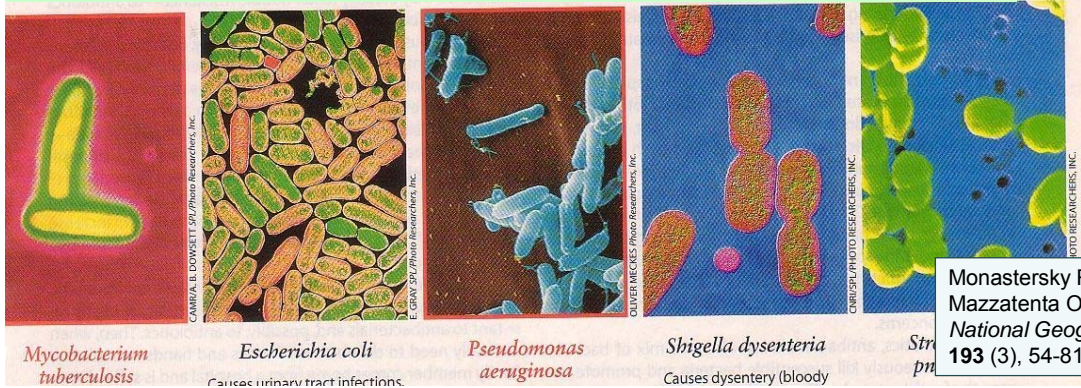


-7-



*Staphylococcus aureus*      *Acinetobacter*      *Enterococcus faecalis*      *Neisseria gonorrhoeae*      *Haemophilus influenzae*

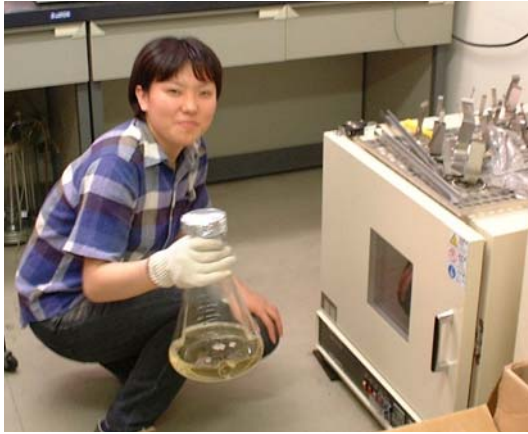
微生物は、善玉菌も悪玉菌も多様



*Mycobacterium tuberculosis*      *Escherichia coli* Causes urinary tract infections.      *Pseudomonas aeruginosa*      *Shigella dysenteriae* Causes dysentery (bloody)      *Strptococcus pneumoniae*

Monastersky R and Mazzatenta OL (1998) *National Geographic* 193 (3), 54-81 より

-8-



微生物を育種・培養

呼吸酵素を精製

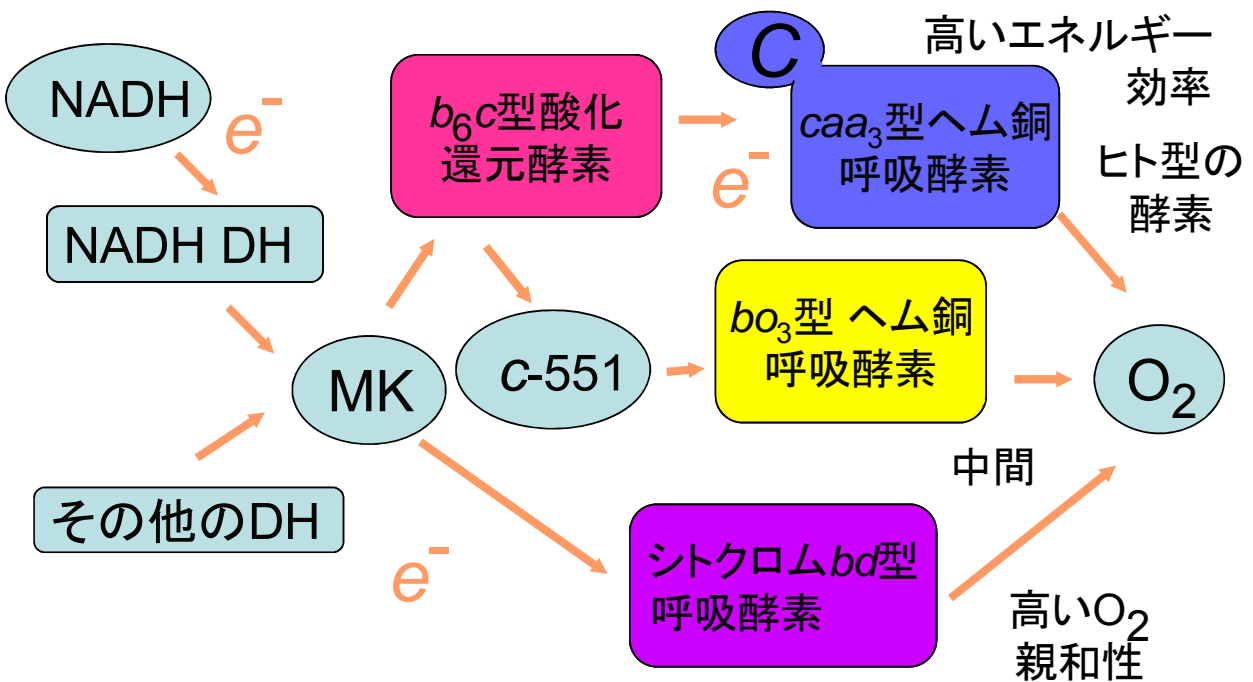


結晶化



X線結晶  
構造解析

好熱菌で、2つめ3つめの呼吸酵素を発見





## Diversity of the respiratory oxidases

		oxidases						Genome project
		subtype	heme copper oxidase			<i>bd</i>		
			A	B	C			
		<i>c</i>	Q	<i>c</i>	Q	<i>c</i>	Q	
Eukaryota	<i>mitochondria</i>	○	-	-	-	-	-	1997
	<i>Bacillus subtilis</i>	○	○	-	-	-	○	2001
Firmicutes	<i>Geobacillus thermodenitrificans</i>	○	-	○	-	-	○	2002
	<i>Corynebacterium glutamicum</i>	○	-	-	-	-	○	1998
Actinobacteria	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	○	-	-	-	-	○	1998
Proteobacteria	$\alpha$ <i>Rickettsia prowazekii</i>	○	-	-	-	-	○	2005
	$\alpha$ <i>Rhodobacter sphaeroides</i>	○	○	-	-	○	○	2006
	$\beta$ <i>Ralsonia eutropha</i>	○	○	-	-	○	○	1997
	$\gamma$ <i>Esherichia coli</i>	-	○	-	-	-	○	2000
	$\gamma$ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	○	○	-	-	○	○	1997
	$\epsilon$ <i>Helicobacter pylori</i>	-	-	-	-	○	-	-
Eury-archaea	<i>Halobacterium sp.NRC-1</i>	○	-	○	-	-	○	2000
	<i>Termoplasma acidophilum</i>	-	-	-	-	-	○	2000
Cren-Archaea	<i>Aeropyrum pernix</i>	○	-	○	-	-	-	1999

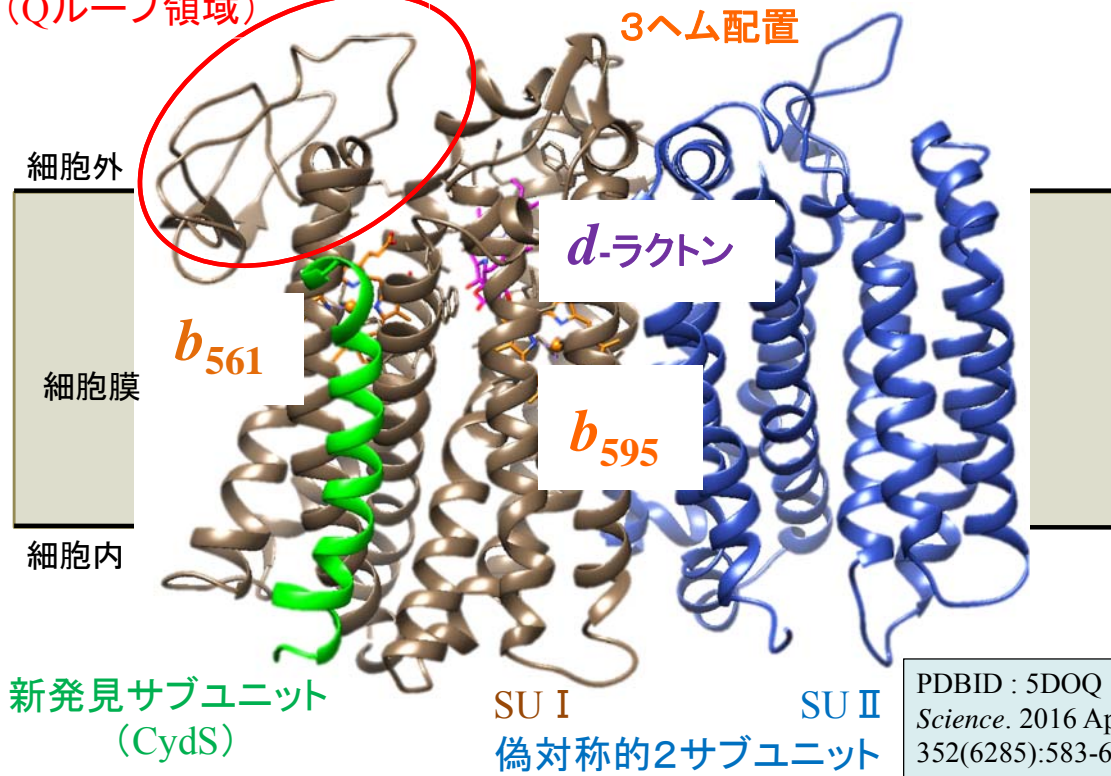
-11-

生物の種類	へ△銅呼吸酵素					<i>bd</i> 型		計
	A	Q	B	P	C	L	S	
ヒト		-	-	-	-	-	-	1
ナットウ菌			-	-	-	-		4
<b>熱い湯を好む菌</b>		-		-	-	-		3
傷を膿ませる菌	-		-	-	-	-		2
<b>アミノ酸生産菌</b>		-	-	-	-	-		2
植物の病原菌			-	-			-	6
大腸菌	-		-	-	-		-	3
環境浄化に働く菌			-	-		-		4
胃潰瘍を起こす菌	-	-	-	-		-	-	1
イオウを好む菌	-				-	-	-	4

-12-

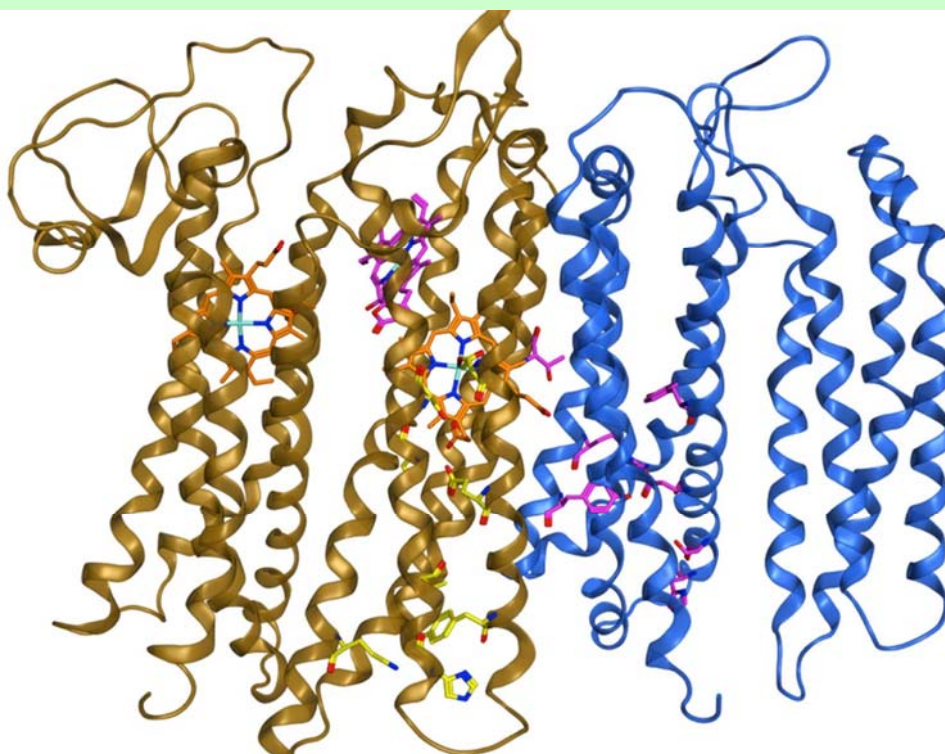
最有力な創薬ターゲット  
(Qループ領域)

予想外の  
3ヘム配置



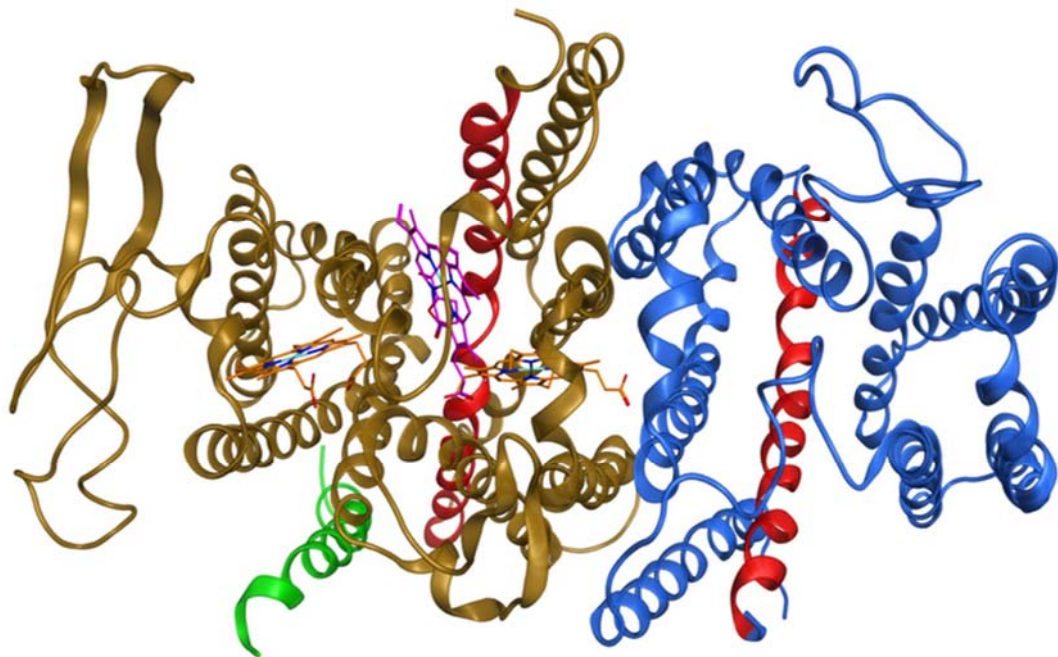
-13-

H<sup>+</sup>の通路が2サブユニットに1本ずつ推定できる。

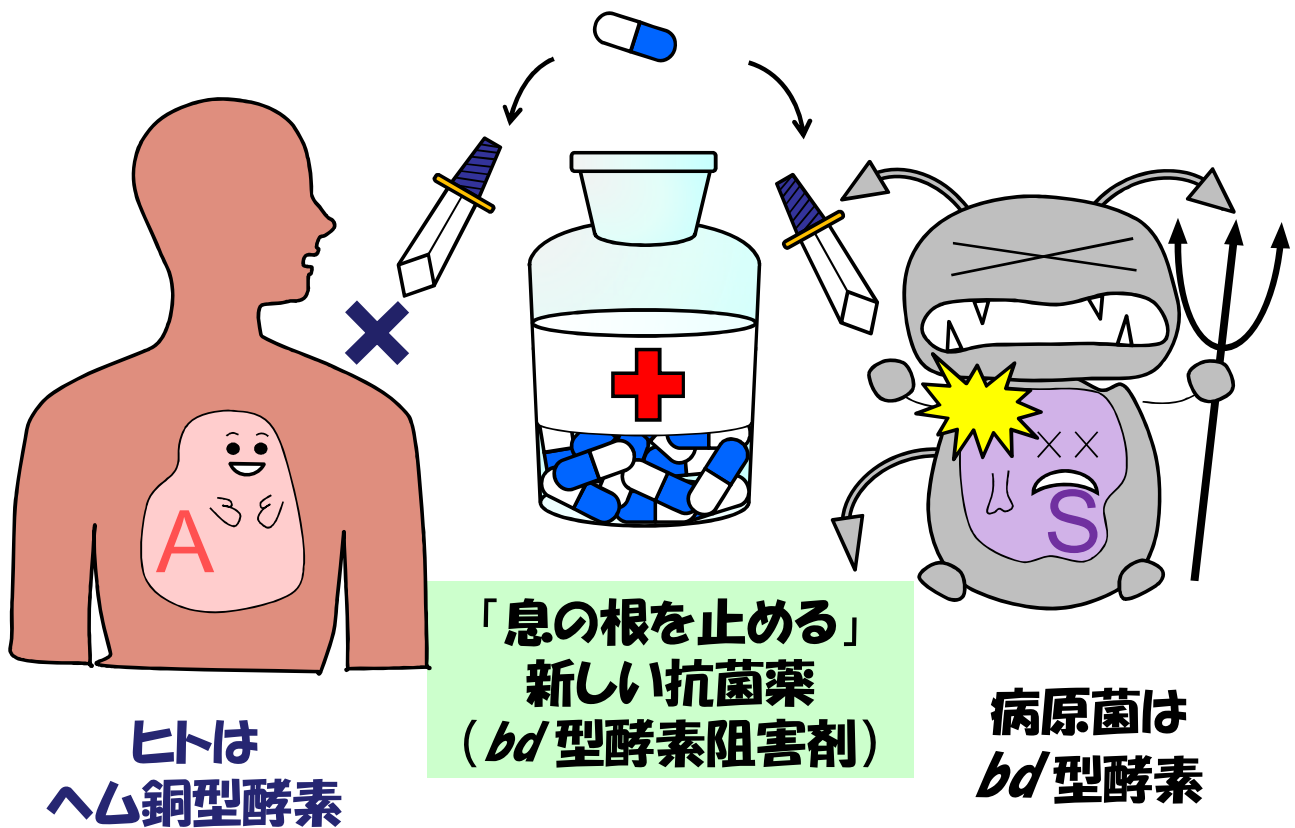


-14-

2大サブユニットは全体的に回転対称的だった。

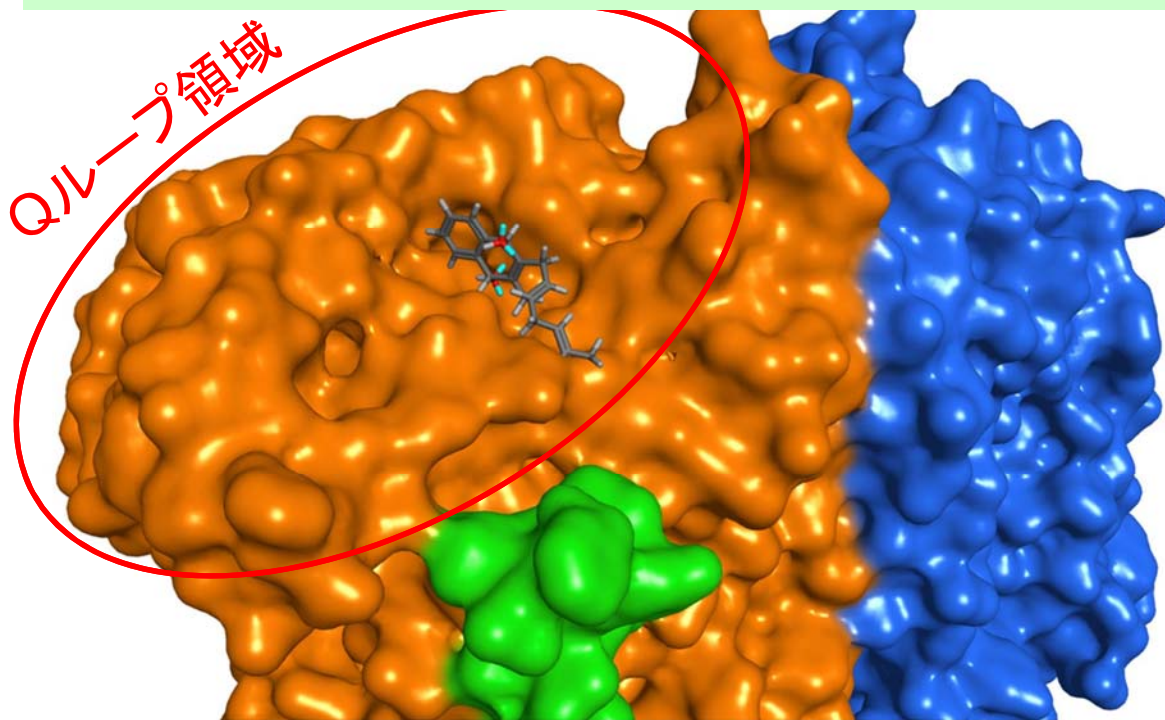


-15-



-16-

座標データは *in silico* ドッキング手法で新規  
抗菌薬の分子デザインに利用できる。



-17-



ドイツ マックスプランク  
生物物理学研究所側



九州工業大学側