

ヘムセンサー HRI やヘム基盤酸素センサー *EcDOS*, *YddV*, *AfGcHK*, および関連ヘムセンサーの構造と機能の関係

清水 透

ヘム鉄はヘモグロビン, シトクロム *c*, P450 などのヘムタンパク質において, 酸素が関わる反応や電子移動などの活性中心としてよく知られているが, 近年, (1)ヘム鉄がシグナル分子になってタンパク質に結合・解離し, 標的タンパク質の DNA 結合能や酵素活性を制御することや, (2)酸素, NO, CO などの分子がシグナルとして標的タンパク質内のヘム鉄に結合・解離し, 標的分子内の別のドメインの DNA 結合能や酵素活性を制御することが明らかになり, これらヘム鉄をリガンドとするヘムセンサーやガスセンサータンパク質が多くの重要な生理機能に関与することが判明した. 本稿では, 著者らが研究してきた HRI などのヘムセンサー, および *EcDOS*, *YddV*, *AfGcHK* などの酸素センサーの分子機構について概説するとともに, 周辺分野の最近の知見についても紹介する.

1. はじめに

ヘム鉄は生体にとって重要な補欠分子である^{1,2)}. しかし, 遊離のヘム鉄自身は活性化酸素を生じるなど強い毒性を持つ^{3,4)}. ヘム鉄はタンパク質と結合することにより, ヘモグロビンにおける酸素運搬, ミオグロビンにおける酸素貯蔵, P450, NO 合成酵素などにおける酸素の活性化, シトクロムなどにおける電子伝達など多くのヘムタンパク質で重要な働きを担う^{1,2)}. これらのよく知られているヘムタンパク質では, ヘム鉄は酸素や電子が関わる機能中心として重要な役割を果たしている.

最近, これら機能既知のヘムタンパク質においても, まったく新しい機能が知られるようになってきた. たとえば, ヘモグロビンは NO を血管末梢へ運搬する他⁵⁾, NO の解毒作用としての酸化反応⁶⁾ や, 逆に NO₃⁻, NO₂⁻ の NO への還元反応を触媒する⁷⁾. また, シトクロム *c* については脂質であるカルジオリピンへ結合することや, ストレスにより誘起されるシトクロム *c* のヘム結合部位周辺アミノ酸残基の修飾, およびシトクロム *c* の構造変化に伴って生じる活性酸素がアポトーシスに関与することが報告されている⁸⁾.

一方, ヘム鉄の新規機能として, (1)ヘム鉄自身がシグナルになって, 標的タンパク質への結合・解離を通して酵素反応や転写を制御するなどの役割を果たす⁹⁻¹¹⁾ ことや (図 1A), (2)ヘム鉄が, 酸素, NO, CO などのガス分子のセンシング (感知, 結合) 部位になり, 分子内シグナル伝達機構を介して別のドメインにおける転写反応や酵素反応を制御する^{11,12)} (図 1B) ことなどが知られている. これらのヘム鉄自身が関わる多くの機能は生命体の生存のためにきわめて重要な役割を果たす.

2. 3価ヘム鉄の結合・解離が機能を制御するヘムセンサー HRI

ヘムセンサーでは, ヘム鉄自身, 特に3価ヘム鉄が第一シグナルとして機能性タンパク質と結合・解離を行い, その結果, ヘム鉄結合部位周辺のタンパク質構造が変化する. この構造変化が第二シグナルになり, DNA 結合やタンパク質リン酸化 (キナーゼ) 反応などのスイッチの切り替え (on/off) を制御する⁹⁻¹³⁾ (図 1A). 我々は, HRI [heme-regulated inhibitor, ヘム制御真核生物翻訳開始因子 2 α キナーゼ (heme-regulated eukaryotic initiation factor 2 α kinase) ともいう] の全長タンパク質の大腸菌での発現系を構築し, 各種変異体の活性やスペクトルを検討し, 3価ヘム鉄の結合・解離で制御されるキナーゼ反応の分子機能の一部を明らかにした.

HRI はストレスに対応してタンパク質の翻訳・合成を初期段階で停止させる四つのキナーゼ (GCN2, PERK, PKR,

東北大学名誉教授

Structure and function relationships of a heme sensor, HRI, and heme-based oxygen sensors, *EcDOS*, *YddV* and *AfGcHK*, and related heme sensors

Toru Shimizu (Professor emeritus at Tohoku University)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2017.890176

© 2017 公益社団法人日本生化学会

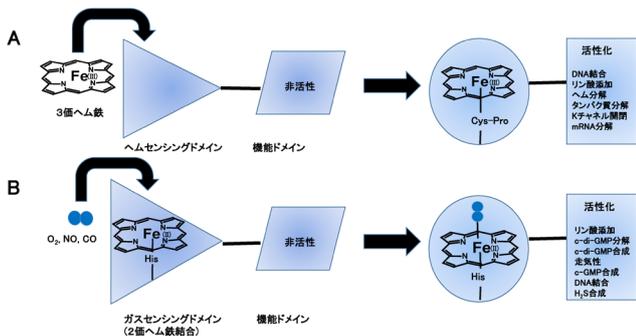


図1 ヘムセンサーとヘム基盤ガスセンサーの仕組み (A)ヘムセンサー⁹⁻¹¹⁾。一般に、3個ヘム鉄が、ヘムセンシングドメイン内のシステイン—プロリンモチーフ (Cys-Pro motif, CP motif)¹⁶⁾ に結合し、その結果、DNAとの結合や触媒反応 (リン酸添加反応等) が促進される。3個ヘム鉄の結合が逆にこれらを阻害する場合もある。(B)ヘム基盤ガスセンサー¹²⁾。酸素、NOやCOが、N末端のセンシングドメインにある2個ヘム鉄に結合し、その結果、触媒反応 (リン酸添加反応等) やDNAとの結合が促進される。逆に、ガスの結合がこれらを阻害する場合もある。sGCの2個ヘム鉄-NO結合型は、5配位結合で、タンパク質上のヒスチジンと鉄とは結合していない (図4D参照)。

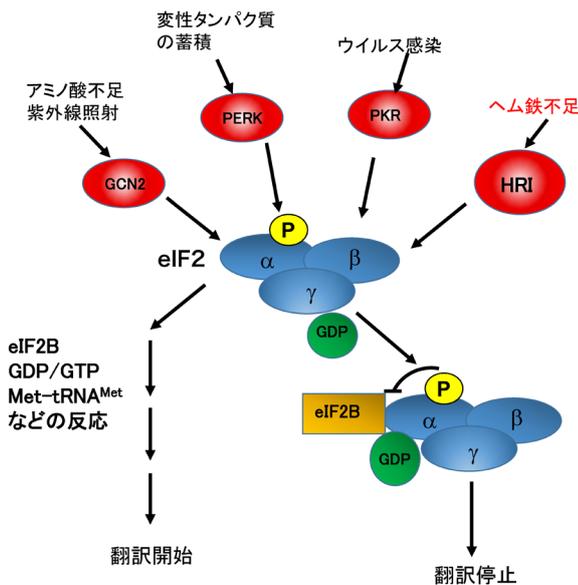


図2 真核生物翻訳開始因子2 (eIF2) さまざまなストレスにより、GCN, PERK, PKR, HRIなどのキナーゼがeIF2の α サブユニットをリン酸化し、タンパク質の翻訳が停止する^{14, 15)}。このリン酸化がない場合、eIF2BによるGDP-GTP交換やMet-tRNA^{Met}などが関わるいくつかの一連の複雑な反応を経過して、タンパク質の翻訳が開始される。しかし、これらのキナーゼによりeIF2 α がリン酸化すると、eIF2BがeIF2と相互作用して一連の反応の進行が妨げられて、その結果、タンパク質翻訳が停止する。これら四つのキナーゼはそれぞれ類似の触媒活性部位を持ち、共通の基質 (eIF2 α のSer51) をリン酸化する^{11, 14, 15)}。

HRI) の一つである。タンパク質の翻訳・合成初期過程は α, β, γ サブユニットから構成される真核生物翻訳開始因子2 (eukaryotic initiation factor 2 : eIF2) が関わるいくつかの複雑な反応で構成されている¹⁴⁾ (図2)。さまざまなストレ

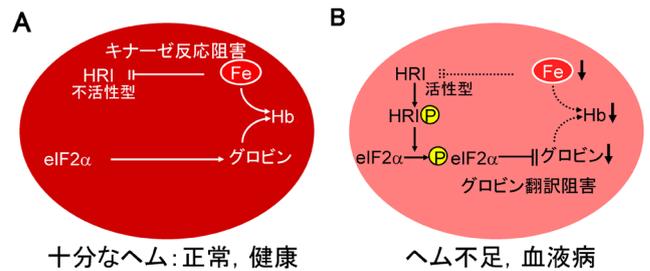


図3 赤血球内でのHRIの活性化の機構 (A)健康の場合、赤血球内のヘム鉄濃度は十分にあり、ヘム鉄はHRIと相互作用し、HRIは不活性型である。(B)血液の疾病などでヘム鉄が十分に合成されない場合、赤血球内のヘム鉄濃度は低い。ヘム鉄濃度が低いとヘム鉄がHRIに結合しないので、HRIは活性型になる。活性型HRIはまず自己リン酸化し、次にeIF1 α のSer51をリン酸化して、グロビンの翻訳を停止させる。その結果、低濃度のヘム鉄に対応した低濃度のグロビタンパク質が存在することになる^{9-11, 15)}。Hb : ヘモグロビン。

ス、たとえば、(1)紫外線照射、アミノ酸不足、(2)変性タンパク質の蓄積 (ERストレス)、および(3)ウイルス感染、を細胞が感知すると、それぞれのストレスに対応して、GCN2, PERK, PKRというキナーゼが活性化する。その結果、共通の基質eIF2の α サブユニット (eIF2 α) の51番目のセリン残基がリン酸化され、タンパク質の翻訳・合成は初期段階で停止する。HRIは、これらの三つのキナーゼと同じ活性部位と基質を保持し、赤血球内で3個ヘム鉄の不足というストレスを感知し、グロビンの翻訳・合成をその初期段階で停止させる^{9-11, 14, 15)} (図2)。

赤血球内では、ヘム鉄とグロビタンパク質が1:1で結合してヘモグロビンが生成されており、ヘム鉄とグロビタンパク質の適切な濃度均衡維持が必要となる。ヘム鉄濃度に比例したグロビン濃度の調節は転写段階の制御によるのではない¹⁵⁾ (図3)。まず、赤血球内の3個ヘム鉄濃度が正常である場合には、HRIタンパク質に3個ヘム鉄が結合することによってHRI活性が抑制されている (図3)。ところが、ヘム鉄が正常に生合成されないようなある種の血液疾患においては、赤血球内の3個ヘム鉄の濃度が低下する。すると3個ヘム鉄がHRIから解離してHRIの大規模なタンパク質の構造変化が誘起され、キナーゼ活性部位がタンパク質分子の表面に露出する。それによってHRIはまず自己リン酸化して活性型になり、最終的にeIF2 α に対するキナーゼ活性を発現する。eIF2 α がリン酸化されると、タンパク質翻訳・合成は初期段階で停止する。こうして低濃度の3個ヘム鉄に反応したグロビタンパク質の合成抑制が達成される¹⁵⁾。

一般に、ヘムセンサーの3個ヘム鉄のセンシング部位は、システイン (Cys)、またはシステイン—プロリン (Cys-Pro) 配列を有し、この配列はCPモチーフ、またはヘム制御モチーフ (heme regulatory motif : HRM) とも呼ばれる¹⁶⁾。3個ヘム鉄が結合したHRI全長タンパク質の吸収スペクトルは423 nmに吸収極大を示し、軸配位子が上下から3個ヘム鉄に結合した6配位低スピン錯体であると

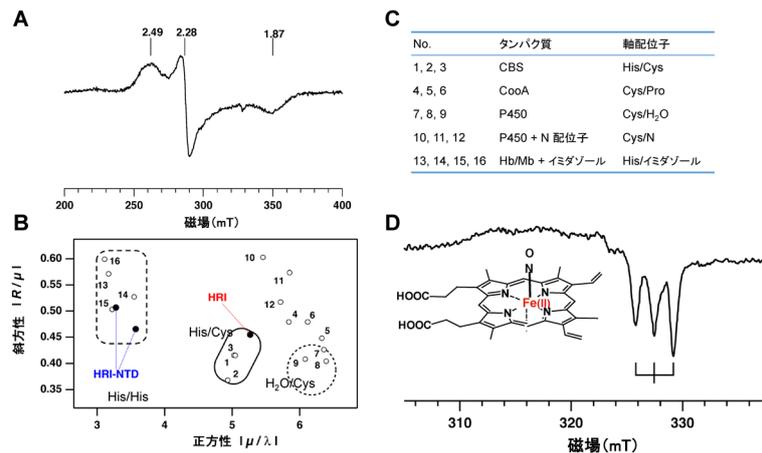


図4 ヘム鉄結合HRIのEPRスペクトル

(A) 3個ヘム鉄が全長HRIに結合したスペクトルより、6配位低スピン型であることがわかる。(B) HRIのEPRの結晶場ダイアグラムのパラメーターより、上下の軸配位子はHis/Cysであることが示唆される。N末端だけを単離精製したHRI (HRI-NTD) では、上下の軸配位子がHisであることが示唆される。(C) 他の6配位低スピン型3個ヘムタンパク質のパラメーター。数字は(B)内の数字に対応する。(D) NOが結合したヘム鉄結合HRIのEPRスペクトル。スペクトルの微細構造は5配位NO-Fe(II)ヘム鉄に由来する典型的なスペクトル¹⁷⁾。

推定された¹⁷⁾。また、その電子常磁性共鳴 (EPR) スペクトルの結晶場ダイアグラム (crystal field diagram) のパラメーターは、6配位ヒスチジン-3個鉄-システイン (His-Fe(III)-Cys) の配位構造をとるヘムタンパク質の領域に存在した (図4A~C)。

さらに、N末端領域をさまざまな長さで欠損させた変異体を作製し、それらの吸収スペクトルを全長タンパク質と比較すると、N末端85残基を欠損させた変異体では野生型と同様に423 nm付近に6配位His-Fe(III)-Cys配位構造に由来するソーレー帯の吸収極大を示した。しかし、N末端127残基、あるいは145残基を欠損させた変異体では370 nm付近に5配位Fe(III)-Cys配位構造に由来する吸収極大を示し、EPRスペクトルには5配位Fe(III)配位構造に由来するシグナルが検出された。これらのことより、N末端127残基までに存在するヒスチジン残基、および128番目のアミノ酸残基以降の領域に存在するシステイン残基が野生型HRIの6配位His-Fe(III)-Cysの軸配位子であることが推定された¹⁸⁾。

ヘムの軸配位子であるアミノ酸残基を同定するためにHRIのN末端に存在する7個のヒスチジン残基の部位特異的変異体 (H75L, H78L, H80A, H86A, H119A, H120A, H126A) を構築しそのヘム結合性を調べた。しかし、これらの一重置換変異体は野生型と同様のヘム結合性を示し、唯一H119A/H120Aの二重変異体でヘム結合性の消失が認められた。この現象は、HRIタンパク質が柔軟性を有しており、H119AまたはH120Aの一残基置換では、隣接するヒスチジン残基と配位子交換反応が進行するためにヘム結合性は変わらず、交換反応が起こらない二重変異体にする事でヘム結合性の消失が観測できたと解釈され、His119またはHis120が3個ヘム鉄の軸配位子の一つであると推定された¹⁹⁾。次に、C末端側にある6個のシステインの部位特異的変異体 (C208S, C385S, C409S, C464S,

C491S, C550S) を構築し、そのヘム結合性を調べた。その結果、C409S変異体では3個ヘム鉄への結合性が消失しており、Cys409が3個ヘム鉄の軸配位子であることが示唆された¹⁹⁾ (図5)。このCys409はC末端側に二つ存在するCPモチーフの一つであったことから、隣接するプロリン残基Pro410をアラニン置換したP410Aを作製したところ、この変異体も3個ヘム鉄への結合性が消失していた¹⁹⁾。このことより、Pro410は、Cys409の3個ヘム鉄との相互作用を立体的に助ける役割をすることが示された。

ここで注意しなければならないことがある。それは、CPモチーフがあくまで3個ヘム鉄の結合部位であるということである、すなわち、3個ヘム鉄が2個ヘム鉄へ還元されると、軸配位子であるシステイン残基が2個ヘム鉄から解離し、この残基に代わって同じタンパク質内の近隣に存在する他のアミノ酸残基 (イミダゾール側鎖を有するヒスチジン残基など) が非特異的に2個ヘム鉄に結合・配位して、ヘム鉄結合部位周辺のタンパク質構造が著しく変化する⁹⁻¹¹⁾。一方、酸素やCOは2個ヘム鉄にしか結合しない。3個ヘム鉄しか結合しない (感知する) ヘムセンサータンパク質が、同時に2個鉄でない機能できないヘム基盤COセンサーになるといういくつかの報告があるが、還元電位より推定されるヘム鉄の還元の様子なども考慮する必要がある。

ヘムセンサーでは、3個ヘム鉄のタンパク質への親和性はヘモグロビンやミオグロビンより著しく低い。3個ヘム鉄のHRIタンパク質からの解離速度定数は $1.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ でミオグロビンの値 $8.4 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ より 10^3 倍以上高い^{9, 18)}。そのために、3個ヘム鉄はHRIタンパク質に対して容易に結合・解離し、タンパク質の構造変化を誘起してその機能を発揮すると推定される。また、赤血球内の遊離3個ヘム鉄の濃度と3個ヘム鉄のHRIからの解離平衡定数とは近い値であると推定される。一方、核内で3個ヘム鉄が結合

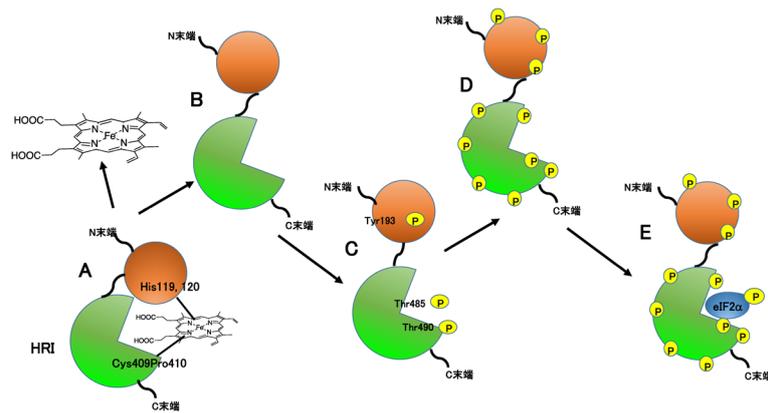


図5 HRIの活性化の機構

(A)健康な場合、3価ヘム鉄が赤血球内に十分に存在しHRIに結合しているため、HRIは不活性型である。(B)血液の疾病などで3価ヘム鉄の合成が阻害されると、3価ヘム鉄の濃度は低下しHRIより解離し、キナーゼ活性化部位が露出する。(C)活性化したHRIはまず、Tyr193, Thr485, およびThr490をリン酸化する。(D)次いで、残りの30個のアミノ酸(Ser, Thr, Tyr)をリン酸化する。(E)HRIの30個のアミノ酸がリン酸化されて初めて、HRIはeIF2 α のSer51をリン酸化するための、十分な活性を持つ^{11, 17, 19, 24)}。

する転写制御因子Rev-erb β の3価ヘム鉄の解離速度定数は 10^{-6} s^{-1} で非常に低い²⁰⁾。核内の3価ヘム鉄の濃度は最大2.5 nM程度ときわめて低いため¹³⁾、核内で3価ヘム鉄の結合・解離が転写やDNAとの結合を制御するヘムセンサーは3価ヘム鉄との親和性がきわめて高く、その解離平衡定数はヘム鉄の核内濃度pM~nM程度と推定される。

HRIでは、3価ヘム鉄の二つの軸配位子であるHis119とCys409は一次構造上かなり離れている¹⁹⁾。そこで、His119を含むN末端側とCys409を含むC末端側をドメインごとに過剰発現し、両ドメイン間のタンパク質-タンパク質相互作用が3価ヘム鉄によってどう影響されるかをプルダウンアッセイで調べた。各ドメインタンパク質は、3価ヘム鉄がある場合のみタンパク質-タンパク質相互作用することが確認できたが、3価ヘム鉄がない場合には相互作用は確認できなかった。また、3価ヘム鉄の軸配位子であるHis119A/His120Aの二重変異体やC409S変異体では、3価ヘム鉄存在下においてもタンパク質-タンパク質相互作用が観察されなかった。これらの結果から、HRIタンパク質において、3価ヘム鉄の結合・解離に伴う、閉鎖型(Closed form)/開放型(Open form)という大きな構造変化が誘起されることが推定された^{9, 19, 21)}。Bach1/2やイオンチャンネル(下記参照)においても、ヘム結合部位周辺のタンパク質構造の高い柔軟性が示唆されている^{22, 23)}。

NOはさまざまな重要な生理機能を制御している。3価ヘム鉄が結合した不活性型HRIにNOを添加すると、3価ヘム鉄がNOによって2価ヘム鉄へ還元されると同時に5配位Fe(II)-NO錯体へ変化し、HRIは活性化される¹⁷⁾。その分子機構については、5配位2価ヘム鉄-NO錯体になると、ヘム鉄とHRIタンパク質間の結合(配位)が解消されてヘム鉄がタンパク質から離れて浮いた状態になるために(図4Dの配位構造参照)、HRIのキナーゼ活性部位が開放されると推定される。また、N末端85残基を欠損したHRI変異体では、NO添加により6配位NO-Fe(II)-Hisが

生成し、野生型酵素で観察されたようなNOによる活性回復が観測されなかった。この結果から、活性型5配位NO-Fe(II)錯体の生成にはHRIのN末端領域が必要であると推定された^{17, 18)}。

HRIの自己リン酸化とヘム鉄の結合性の関連を調べたところ、HRIで自己リン酸化する33個のアミノ酸が質量分析で同定された。これら自己リン酸化部位の部位特異的変異体のキナーゼ活性を調べると、自己リン酸化はまずTyr193, Thr485, およびThr490で起こり、続いて残り30個のアミノ酸(Ser, Thr, Tyr)がリン酸化した後にHRIが活性型になり、その後に基質であるeIF2 α のSer21がリン酸化されることが示唆された²⁴⁾(図5)。また、HRIがいったんリン酸化すると3価ヘム鉄のHRIへの結合が妨げられることから、リン酸化がタンパク質表面の修飾のみならず、タンパク質全体構造の変化を伴うことが示唆された。

水銀はチオールに対して高い親和性がある。そのため、当然ながら、システインが軸配位子である3価ヘム鉄結合型全長HRIへ水銀を添加することによりシステイン軸配位は消失した。一方、3価ヘム鉄が結合していない活性型HRIに水銀を添加すると、強い活性阻害($\text{IC}_{50} = 0.6 \mu\text{M}$)が認められ、この活性阻害はNOの添加により消失した。このことから、キナーゼ活性にはシステインが関わっている可能性が示唆された。また、NOはチオール基とSNOを形成することから、水銀によりブロックされたシステインの機能がNOによって回復したと推定される²⁵⁾。

3. 他のヘムセンサー

3価ヘム鉄は、GDCR8のシステイン残基に結合してマイクロRNAのプロセッシングに寄与する他²⁶⁻²⁸⁾ HAP1¹⁶⁾, ALAS²⁹⁾, Bach1/2^{22, 30-34)}, p53³⁵⁾, Shu1/Fep1³⁶⁾, PpsR³⁷⁾, All4978³⁸⁾, Sbn1³⁹⁾, NPAS2⁴⁰⁻⁴⁶⁾, Per1⁴⁷⁾, Per2⁴⁸⁻⁵¹⁾, Rev-erb β ^{20, 52, 53)}, E75⁵³⁻⁵⁵⁾のシステイン残基への結合・解離を

介して、標的タンパク質遺伝子の転写制御やDNA結合などの機能制御に関与することが報告されている。先述したように、これらの反応はヘム鉄の濃度が低い核内で進行することから、3価ヘム鉄が標的タンパク質に対して非常に高い親和性を有すると推定される。NPAS2については、3価ヘム鉄以外に、2価ヘム鉄、pH、NADPHがDNA結合や他の転写制御タンパク質との相互作用に関係しているという報告もある⁴⁴⁻⁴⁶。

膜結合性イオンチャネルでは3価ヘム鉄がシステイン残基へ結合して、チャネルの開閉を制御する^{23, 56-60}。IRP2⁶¹やIrr⁶²⁻⁶⁴では、3価ヘム鉄のシステイン残基への結合・解離が、タンパク質分解やヘムの分解を制御する。

ヘムセンサーでもヘム結合（センシング）部位がシステイン残基ではなくヒスチジン残基の場合もある。ヘム分解に関わるHutZ⁶⁵、代謝や体内時計に関わるRev-erba⁶⁶⁻⁶⁸、転写に関わるHrtR⁶⁹、およびtRNA合成に関わるTrpRS⁷⁰では3価ヘム鉄はシステイン残基ではなくヒスチジン残基に結合する。二成分シグナル伝達（下記参照、図8）に関わるヘムセンサー・キナーゼChrSでは3価ヘム鉄の結合部位は同定されていない^{71, 72}。

ヘム酸素添加酵素HO-2にはCPモチーフが備わっており、その部位への3価ヘム鉄の結合が研究されているが、ヘム鉄の結合がHO-2の機能に果たす役割については不明である^{73, 74}。

PGRMC1 (progesterone-receptor membrane component 1) は3価ヘム鉄がチロシン残基に結合・解離して上皮成長因子受容体やシトクロムP450とのタンパク質相互作用を制御するヘムセンサーであると報告された⁷⁵。2分子の3価ヘム鉄はスタッキングして直接結合し、Tyr113のみが軸配位子である5配位結合になっている。ヘム鉄のスタッキング二量体とチロシン軸配位結合は、ヘム輸送タンパク質にみられる^{76, 77}。多くの3価ヘム鉄輸送タンパク質のヘム鉄結合部位（軸配位子）もチロシン残基である⁷⁶⁻⁸⁴。PGRMC1はヘム鉄輸送タンパク質であるとも報告されている⁸⁵。PGRMC1のヘム鉄の還元電位は-331mVと非常に低い⁸⁶。ヘム鉄輸送タンパク質での3価ヘム鉄へのチロシン配位は、3価ヘム鉄を安定化し、2価ヘム鉄への還元を難しくしているためではないかと推定される。

4. 化学反応触媒中心としてのヘム鉄—広義のヘムセンサー

3価ヘム鉄の結合・解離が機能を制御するという狭義のヘムセンサーの他に、ヘム鉄が触媒活性中心になる広義のヘムセンサーも存在する。アルドキシム脱水酵素 (aldoxime dehydratase : Oxd)^{87, 88} や15-*cis*- ζ -carotene isomerase (Z-ISO)⁸⁹ では、ヘム鉄自身がこれら酵素反応の触媒中心になる。

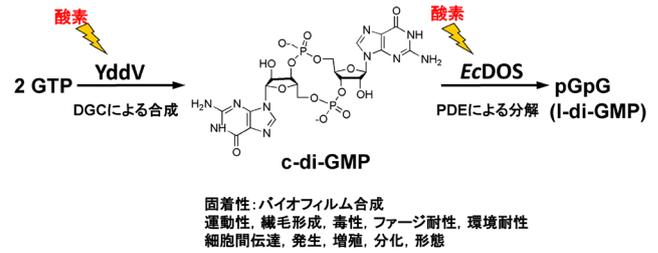


図6 c-di-GMPの大腸菌での代謝

c-di-GMP [bis-(3',5')-cyclic-di-guanosine monophosphate] は細菌において、バイオフィーム合成、毒性、分化など多くの重要な生理機能を制御する二次シグナル化合物である⁹⁶。大腸菌において、YddV、およびEcDOSはそれぞれc-di-GMPを合成、および分解するヘム基盤酸素センサーである。YddV、およびEcDOSの酸素親和性、還元電位、反応回転数などは異なっている。大腸菌内の微小局在、および一過性の環境に対応して、この二つの酸素センサー酵素は相乗的に機能し、c-di-GMPの濃度を制御していると推定される^{12, 91, 98, 121, 122}。

5. ヘム基盤酸素センサー

酸素は呼吸や代謝などできわめて重要な働きをする。ヘム基盤酸素センサーはN末端の酸素センシングドメインとC末端の機能ドメインから構成される（図1B）。酸素分子自身が第一シグナルになり、酸素センシングドメインに存在する2価ヘム鉄に結合・解離してヘム鉄周辺のタンパク質構造変化を誘起し、その構造変化が第二のシグナルになり、C末端側のドメインでの触媒反応を制御する^{12, 90, 91}。

1) ヘム結合PAS構造ドメインを持つ酸素センサー

PAS [Per (*Drosophila* period clock protein), Arnt (vertebrate aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator), and Sim (*Drosophila* single-minded protein)] ドメインは主に β シートから構成され、多くの分子間、および分子内シグナル伝達に関わっている⁹²。多くのヘム基盤ガスセンサーでは、N末端にあるPASドメインにヘム鉄が結合して、ガスセンシングドメインになる。酸素などのガス分子がこのヘム鉄へ結合することにより、PASタンパク質の構造が著しく変化する⁹³⁻⁹⁵。

大腸菌由来EcDOS (EcDosP) はヘム結合PASドメインを保持するヘム基盤酸素センサーである。酸素がEcDOSの酸素センシングドメインの2価ヘム鉄へ結合することにより、センシングドメインタンパク質の大きな構造変化が起きる^{94, 95}。そのタンパク質の構造変化がシグナルになって、C末端側の機能ドメインに伝達される。その結果、微生物にとって重要なシグナル分子であるc-di-GMP⁹⁶がpGpG（またはlinear-di-GMP）へ分解・変換される反応 (phosphodiesterase : PDEによる) が、 9.7 min^{-1} から 61 min^{-1} へと亢進する（図6）⁹⁷⁻¹⁰⁰。この反応が機能するC末端側の機能ドメインにはPDEに関わるEALサブドメインとc-di-GMPの合成 (diguanylate cyclase : DGCによる) に関わるGGDEFサブドメインの両方のサブドメインを保持している。しかし、EcDOSではPDE活性しか発現しない。

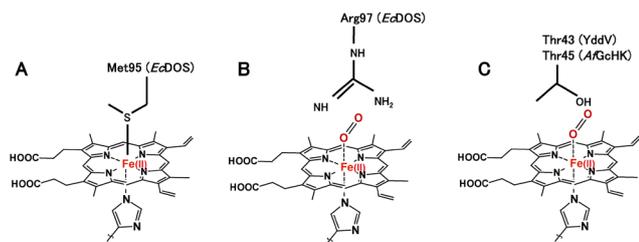


図7 ヘム基盤酸素センサー *EcDOS*, *YddV*, および *AfGcHK* の活性に関わるヘム鉄の配位構造

(A) 不活性型 *EcDOS* の2価ヘム鉄の配位構造. *Met95* が遠位側の軸配位子である⁹⁴⁾. (B) 活性型 *EcDOS* である酸素結合2価ヘム鉄錯体 ($\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$) の配位構造⁹⁵⁾. *Arg97* が酸素と相互作用をしており, この酸素結合錯体を安定化している. 酸素が2価ヘム鉄へ結合することにより, *Met95* を含むタンパク質部分が上に押し上げられ, その情報がC末端に伝達され, C末端での機能が亢進すると示唆される. その証拠として, *M95A*, *M95I* 変異体では, 酸素が結合しない状態ですでに活性型になっているが, *M95H* 変異体では, 野生型と同様に酸素が結合することによって初めて活性化する¹⁰⁰⁾. (C) 活性型 *YddV* や *AfGcHK* の酸素結合2価ヘム鉄錯体 [$\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$] の推定配位構造. *Thr43* や *Thr45* が酸素と相互作用をしており, この酸素結合錯体を安定化していると推定される^{121, 128)}.

大腸菌では, 次項で述べるようにDGC活性を保持する別のヘム基盤酸素センサー, *YddV* が存在し, 細胞内の酸素濃度に依存してc-di-GMPの合成や分解が *EcDOS* と *YddV* によって相乘的に行われてc-di-GMPの細胞内濃度を部分的に調節していると推定される (図6).

酸素が結合していない不活性型 *EcDOS* では, *Met95* が2価ヘム鉄への軸配位子である (図7A)⁹⁴⁾. 2価ヘム鉄に酸素が結合すると, ヘム鉄遠位側 (酸素結合側, distal side) のタンパク質の大きな構造変化が誘起され, その結果 *Arg97* が $\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$ 錯体の酸素と総合作用するようになる (図7B)⁹⁵⁾. この酸素の結合に誘起されたタンパク質の構造変化がシグナルになり, そのシグナルがC末端ドメインに伝達され, C末端ドメインにあるc-di-GMP分解触媒 (PDE) 活性が促進される (図1B, 図6)¹⁰⁰⁾.

Met95 をアラニン, ロイシンなどの2価ヘム鉄に配位しないアミノ酸に変異する (*M95A*, *M95L*) と, それらの変異体では酸素の結合がない状態でもすでに活性型であった. *M95A*, および *M95L* 変異体の場合, 遠位側のアミノ酸 *Ala95*, *Leu95* がすでに2価ヘム鉄から上位へ解離している. そのために, これら変異体では遠位側のタンパク質構造は酸素が結合したのと類似した構造になっており, 酸素が結合しなくても活性体であると推定される. しかし, *Met95* をヒスチジン残基に変異すると (*M95H*), 野生型と同様にヒスチジン残基は2価ヘム鉄の軸配位子になり, 酸素が存在しない状態では不活性型で, 酸素を添加することにより活性化する. 以上のことより, 酸素が2価ヘム鉄へ結合することにより *Met95* はヘム鉄より解離し, 元々遠位に位置していた *Met95* を含む領域のポリペプチド鎖が上へ押し上げられて, その結果センシングドメイン表面の構造が変化し, その変化がC末端側の活性ドメインに伝わり活

表1 主な酸素センサー, それらの部位特異的変異体, およびミオグロビンへの酸素の結合速度定数 k_{on} , 解離速度定数 k_{off} , 解離平衡定数 K_d , および自動酸化速度定数 k_{ox} ^{12, 91, 98, 102, 103, 121, 128)}

	k_{on} ($\mu\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)	k_{off} (s^{-1})	K_d (μM)	k_{ox} (min^{-1})
<i>EcDOS</i> 野生型	0.0019~0.031	0.61~0.64	20~340	0.0058
<i>Met95Ala</i>	>1	0.73	<0.73	0.0013
<i>Met95His</i>	>1	0.79	<0.79	0.018
<i>Met95Leu</i>	>1	0.45	<0.45	0.0017
<i>Arg97Ala</i>	0.076			>9.5
<i>Arg97Glu</i>				>46
<i>Arg97Ile</i>	0.16	78	500	0.16
<i>BjFixL</i>	0.14	20	140	0.045
<i>RmFixLH</i>	0.22	6.8	31	0.022
<i>YddV</i> 野生型	0.9~1.4	13	9.3~14	0.0092
<i>Tyr43Ala</i>	酸素は結合しない			
<i>Tyr43Leu</i>	酸素は結合しない			
<i>Tyr43Phe</i>	4,6	53	12	0.069
<i>Tyr43Trp</i>	4,6	>150	>33	0.12
<i>AfGcHK</i> 野生型	1.3, 0.15	0.10	0.077, 0.67	<0.001
<i>Tyr45Phe</i>	1.8, 0.15	0.35	0.19, 0.23	<0.001
<i>Tyr45Leu</i>	1.5, 0.078	8.0	5.3, 100	<0.001
<i>Tyr45Trp</i>	1.3, 0.12	3.4	2.6, 28	<0.001
SW Mb	17	15	0.91	0.001

SW Mb: マッコウクジラミオグロビン. $K_d (=k_{\text{off}}/k_{\text{on}})$ 値が低いほど酸素との親和性が高い.

性が発現すると推定される¹⁰⁰⁾. 別の言葉でいうと, *Met95* は反応をロックするために備わっており, 酸素の結合がそのロックを解き放すとも解釈できる. さらに, 興味あることに, ヘム鉄が結合していない変異体が, すでに酸素活性型のコンホメーションをとっていることから, ヘム鉄の結合自体が反応をロックしているとも考えられる¹⁰¹⁾.

Met95 や *Arg97* の部位特異的変異体では, 酸素の結合・解離, 自動酸化速度, 酸化還元電位などの値¹⁰²⁻¹⁰⁵⁾ や, 共鳴ラマンスペクトルのパラメーター¹⁰⁶⁻¹⁰⁸⁾ は野生型 *EcDOS* より著しく異なる (表1, 表2). たとえば, *M95A*, *M95L* 変異体では, 酸素が2価ヘム鉄に結合する際に *Met95* が2価ヘム鉄から解離する必要がないため酸素に対する結合速度定数は野生型 *EcDOS* の30倍以上高くなり, また, 解離平衡定数は野生型 *EcDOS* の5%以下になり, 酸素に対する親和性は著しく高くなる (表1). また, これらの変異体では, 還元電位も野生型 *EcDOS* に比べて著しくマイナス側へ低下する (70~190mV vs. SHE) (表2)¹⁰⁵⁾. したがって, *Met95* の配位は2価ヘム鉄の安定性に寄与しており, 2価ヘム鉄が3価ヘム鉄への酸化を妨げる役目もしていると推定される.

Arg97 は $\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$ 錯体の酸素と相互作用をして, *EcDOS* の酸素結合体を安定化する (図7B). この残基をア

表2 主な酸素センサー, その変異体, NOセンサー, ヘムセンサー, COセンサーとヘムタンパク質の還元電位^{12, 86, 98, 102, 105, 109, 121, 150, 181}

	還元電位 (mV vs. SHE)
<i>EcDOS</i> 野生型	+24~66
Met95Ala	-26
Met95His	-122
Met95Ile	-1
Arg97Ala	+43
Arg97Glu	+40
Arg97Ile	+49
<i>BjFixL</i>	+68
<i>ReFixL</i>	+19
YddV	-22
ウシsGC	+187
PGRMC1	-331
CBS	-350
<i>Aplysia Mb</i> (pH 6.0)	+137
SW Mb	+55
西洋わさびペルオキシダーゼ	-250
シトクロム P450cam	-300
シトクロム <i>b</i> ₅₆₂	+113
シトクロム <i>c</i>	+260

Aplysia Mb: アメフラシミオグロビン. SW Mb: マッコウクジラミオグロビン. 一般に, 還元電位が+だと2価ヘム鉄が安定, -だと3価ヘム鉄が安定に存在する.

ラニンやグルタミン酸へ置換した変異体では, 自動酸化速度が野生型 *EcDOS* より2000倍以上上昇した¹⁰² (表1).

*EcDOS*の各種変異体の共鳴ラマンスペクトルの結果より, Trp53, Met95, Arg97, Tyr126は, ヘム鉄のプロピオン酸やビニル基と水素結合ネットワークを形成していると示唆された. 酸素などの軸配位子が2価ヘム鉄に結合することによりこれらの水素ネットワークが変化し, その情報がC末端ドメインに伝達されて活性が制御されると推定された¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

ヘム結合PAS構造ドメインを持つ酸素センサーである *EcDOS* や *FixL* の酸素の解離解離定数 K_d は20~340 μM と酸素の親和性は比較的低い^{12, 91, 98}. ゆえに, これらの酸素センサーは酸素濃度の比較的高い環境で機能し, 極微小の酸素濃度の変化を感知して, その機能を発揮すると思われる.

EcDOS は3',5'-cyclic AMPの5'-AMPへの変換も行う. この反応は2価ヘム鉄の場合のみ進行し, 3価ヘム鉄の場合反応は進行しないために, *EcDOS* はヘムレドックスセンサー(酸化還元センサー)ともいえる^{99, 109, 110}. 3',5'-cyclic AMPに対する活性は0.15 min^{-1} と非常に低いため, *EcDOS* の主な基質ではないと推定される. しかし, *EcDOS* 遺伝子を破壊した大腸菌においてはその形態が変化するとともに, 菌体内の3',5'-cyclic AMPの濃度が26倍上昇することから, *EcDOS* は3',5'-cyclic AMPが関わる代謝に何らかの

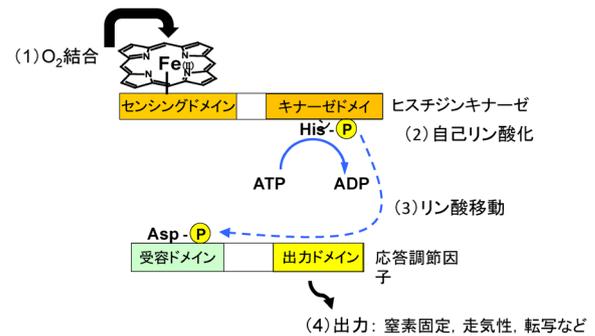


図8 2成分シグナル伝達系^{71, 91}

第一成分として, N末端にセンサードメイン, C末端にヒスチジンキナーゼドメインを保持するヒスチジンキナーゼが存在する. センサードメインに2価ヘム鉄が結合しており, 酸素やNOが2価ヘム鉄に結合することにより, まずヒスチジンが自己リン酸化する. ヒスチジンに結合したリン酸基は, 次いで第二成分である応答調節因子の受容ドメインにあるアスパラギン酸へ移動する. その結果, 出力ドメインより窒素固定や走気性や転写が誘起される. *AfGcHK*の場合は酸素が2価ヘム鉄へ結合して活性化する¹²⁸⁻¹³⁰. しかし, *FixL*¹¹²⁻¹¹⁸ や *DosS*, *DosT*¹⁴¹⁻¹⁴⁴の場合は, 逆に酸素結合複合体が不活性型で, 酸素が2価ヘム鉄から解離すると活性化する. *Chr*では, 3価ヘム鉄が結合して, キナーゼ活性が亢進し, ヒスチジンが自己リン酸化する⁷². 酸素センサー/応答調節因子の例: *ChrS/ChrA*, *FixL/FixJ*, *DosS*, *DosT/DosR*.

寄与があると推定される¹¹¹.

ヘム結合PAS構造ドメインをN末端に有する酸素センサーはこれ以外に *FixL* が重要である¹¹²⁻¹¹⁸. *FixL* は2成分シグナル伝達系(図8)を構成するヒスチジンキナーゼである⁷¹. *EcDOS* と異なり, *FixL* の場合, センシングドメインの2価ヘム鉄に結合した酸素が解離することにより活性化し, まずヒスチジンが自己リン酸化する. ヒスチジン残基に付加されたリン酸基は, 次いで応答調節因子 *FixJ* の受容ドメインにあるアスパラギン酸残基へ転移され, リン酸化された *FixJ* はニトロゲナーゼ遺伝子を活性化し, その発現を促進する. *FixL* の不活性型である2価ヘム鉄-酸素複合体 [O₂-Fe(II)-His] では, その酸素分子と遠位に位置する Arg220 が直接相互作用する点が, *EcDOS* の場合と類似している⁹³ (図7B). *AxpDEA1*¹¹⁹ はPDE活性を有し, また, *Aer2*¹²⁰ はメチル基受容走気性に関わるヘム結合PASドメインを有する酸素センサーである.

2) ヘム結合短縮グロビン構造ドメインを持つ酸素センサー

ヘモグロビンやミオグロビンなどにみられるタンパク質構造であるグロビン構造ドメインは, いくつかの α ヘリックスより構成されている^{1, 2}. 細菌由来の酸素センサーの酸素センシングドメインにもヘム結合グロビンドメインが用いられる. しかし, 酸素センサーのグロビンドメインは, 動物のヘモグロビンなどの正常型グロビンドメインとは異なり, D-ヘリックスとE-ヘリックスの一部が欠損した短縮型グロビンドメイン構造をしている^{12, 91}. 短縮型グロビンドメインにヘム鉄が結合した細菌由来のヘム基盤酸

素センサーは globin-coupled oxygen sensor (GCS) とも呼ばれる。

大腸菌由来の YddV (*EcDoxC*) は c-di-GMP を合成する GCS である (図6)。酸素が2価ヘム鉄へ結合することにより c-di-GMP の合成は 0.0min^{-1} から 0.022min^{-1} へと上昇した^{121, 122}。YddV の酸素の2価ヘム鉄への解離平衡定数 K_d は $14\mu\text{M}$ 程度で酸素の親和性は比較的高いことが判明した (表1)。c-di-GMP を分解する同じ大腸菌由来の *EcDOS* の K_d は $340\mu\text{M}$ であり酸素の親和性が低いことがわかっている。YddV の c-di-GMP 合成活性回転数は *EcDOS* の c-di-GMP 分解活性回転数に比べて低いが、YddV と *EcDOS* の自動酸化速度は同程度であり、大腸菌内の微小環境の一過的な酸素濃度に対応して、*EcDOS* と YddV が協同的に働き、c-di-GMP の濃度を調整していると考えられる (図6)。実際に、c-di-GMP の原料である GTP の水溶液に、この二つの酸素センサー酵素を混合すると、 $\text{GTP} \rightarrow \text{c-di-GMP} \rightarrow \text{pGpG}$ (1-di-GMP) $\rightarrow \text{GMP}$ のように c-di-GMP の合成と分解の連続的な反応を観測することができた¹²¹。また、YddV を大腸菌に過剰発現させるとバイオフィルムの合成が確認されたことから、YddV の大腸菌における生理的役割の重要性が示唆された¹²¹。

これまでに結晶構造が決定されている GCS の一つである HemAT のヘム周辺構造とアミノ酸配列より、YddV では2価ヘム鉄の遠位側にある Thr43 が2価ヘム鉄-酸素複合体 [$\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$] の酸素分子と直接相互作用して、この酸素複合体を安定化していると推定された^{91, 121} (図7C)。そのために Y43A, Y43L 変異体では酸素の親和性が著しく低下し、酸素はこれらの変異体に結合しない。Y43W 変異体では、酸素の解離速度定数、解離平衡定数、および自動酸化速度が著しく増加した (表1)。また、共鳴ラマンスペクトルによって得られる YddV の $\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$ 錯体の Fe-O 結合や O-O 結合の伸縮振動数は、Y43F 変異により著しく変化した¹²¹。また、ヘム鉄の遠位型に存在すると予想される Leu65 は水分子がヘム鉄へ接近することを妨げており、Leu65 変異体では水分子が2価ヘム鉄へ接近し、その結果、自動酸化速度が著しく上昇し¹²³、外部からの軸配位子の2価ヘム鉄への結合様式が変化した^{124, 125}。Leu65 変異体のヘム鉄周辺に存在する水分子は、ヘム酸素添加酵素 (heme oxygenase) と同様に、分子状酸素からの酸素原子がヘム鉄のポルフィリン IX に添加されることを助けることが示唆された^{126, 127}。

土壌細菌 *Anaeromyxobacter* 由来 *AfGcHK* は2成分シグナル伝達系 (図8) を構成するヘム基盤酸素センサー・キナーゼである^{71, 128, 129}。同じ2成分シグナル伝達系の FixL では酸素が2価ヘム鉄から解離することにより活性化するが、*AfGcHK* では酸素が2価ヘム鉄へ結合することにより活性化する。酸素の結合により、まず His183 が自己リン酸化され、次いでそのリン酸が応答調節因子の Asp52 および Asp169 へ転移する。近年開発された Phos-tag SDS-PAGE ゲル電気泳動法を活用したキナーゼ活性測定系を確立した

ことにより、放射性同位元素標識基質を使うことなく、容易にリン酸化部位の同定やリン酸転移反応 (キナーゼ反応) の反応速度論的解析が可能となった^{128, 129}。本活性測定法を用いて、*AfGcHK* キナーゼ活性に関する反応速度論的パラメーターを詳細に検討した結果、酸素が *AfGcHK* の N 末端のセンサードメインの2価ヘム鉄に結合することにより、C 末端ドメインへの ATP の親和性が高まり、その結果、自己リン酸化活性が上昇することが示唆された¹²⁹。

GCS の一つである HemAT の構造と GCS のアミノ酸配列より、Tyr45 が酸素結合錯体 [$\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$] の酸素分子と相互作用をして、この錯体の安定化に寄与すると推定された (図7C)。Tyr45 の変異体では、酸素の解離速度定数や解離平衡定数が野生型に比べて著しく増加し、Tyr45 が酸素結合錯体の安定化に重要な役割を果たすことが確かめられた (表1)。さらに、共鳴ラマンスペクトルより、Y45F 変異体の酸素結合錯体 $\text{O}_2\text{-Fe(II)-His}$ の Fe-O、および O-O 伸縮振動やそれらの重水素効果は野生型と著しく異なることが観測され、Tyr45 が確かに酸素結合錯体の酸素原子と相互作用していることが強く示唆された。チロシンが2価ヘム鉄-酸素複合体の酸素と相互作用することは、別の GCS である YddV と同様である (図7C)。

タンパク質の X 線結晶構造の決定が困難である場合、水素/重水素交換質量分析 (hydrogen-deuterium exchange coupled to mass spectroscopy : HDX-MS) を用いると、水溶液中のタンパク質の構造やタンパク質-タンパク質相互作用が把握できる¹³⁰。HDX-MS の結果より、*AfGcHK* の N 末端のヘム結合短縮グロビン構造ドメインは硬く安定した構造をとってホモ二量体を形成し、ヘム鉄はグロビン構造の内部に埋め込まれていることが示された (図9)。一方 C 末端は比較的柔軟な構造をしており単量体であると示唆さ

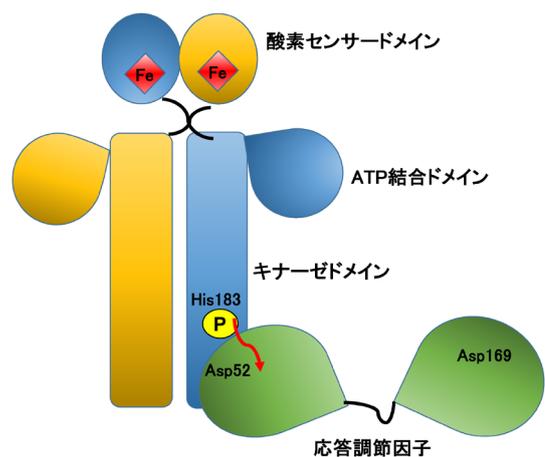


図9 HDX-MS より決定された溶液中の *AfGcHK* と応答調節因子との複合体の構造

酸素センサードメインは硬い構造をしてホモ二量体を形成しているが、キナーゼドメインは柔軟性があり単量体である。酸素センサードメインのヘム鉄は、ドメインの内側に結合している。自己リン酸化される His183 はタンパク質表面に位置しており、応答調節因子で最初にリン酸化される Asp52 は、His183 の近くに位置している¹³⁰。

れた¹³⁰⁾。さらに、水溶液中で、応答調節因子の中で最初にリン酸化される Asp52 が *AfGcHK* の自己リン酸化部位である His183 と近い位置に存在することが明らかになった (図9)。

YddV や *AfGcHK* などの GCS の酸素解離定数 K_d は 0.08 ~ 14 μM であり、*EcDOS* や *FixL* などの PAS 構造ドメイン酸素センサーの K_d 12 ~ 500 μM と比べて低く、酸素親和性は高い⁹¹⁾。このことより、これらの GCS は嫌気的条件下で薄い濃度の酸素を感知して機能すると推定される (表1)。

GCS は他に、HemAT¹³¹⁻¹³⁵⁾、HemDGC¹³⁶⁾、HmAC-Lm¹³⁷⁾、*PccGCS*¹³⁸⁾、RsbR¹³⁹⁾、および *BpeGReg*¹⁴⁰⁾ などがある。

3) ヘム結合 GAF 構造ドメインを持つ酸素センサー

GAF (cGMP-specific and -stimulated phosphodiesterase, adenylate cyclase, and *E. coli* formate hydrogen lyase transcriptional activator) 構造ドメインは PAS 構造と同様に主に β シートから構成されている¹⁴¹⁾。ヘム鉄結合 GAF 構造を保持する酸素センサー、*DosS* (*DevS*) および *DosT* も報告されている¹⁴¹⁻¹⁴⁴⁾。*DosS*、*DosT* ともに、*Fix* と同様に 2 成分シグナル伝達系の一部になるヒスチジンキナーゼであり、酸素結合錯体が不活性型であり、酸素が解離することで活性化する (図8)。

6. ヘム基盤 NO センサー

NO は生物にとってきわめて重要なガス (または小分子) である¹⁴⁵⁾。NO はアルギニンから NO 合成酵素で合成される場合^{146, 147)} と NO₂ から合成される場合⁷⁾ がある。NO はシグナル分子としてヘム鉄と相互作用して重要な生物機能のスイッチの開閉を行う。最も知られたヘム基盤 NO センサーである動物の可溶性グアニル合成酵素 (soluble guanylate cyclase : sGC) は、重要なシグナル分子である cGMP を合成し、多くの生理機能や疾病に関係する^{12, 145)} (図1B)。pmol レベルの NO が β サブユニットの N 末端に存在する 2 価ヘム鉄に結合することによりその合成活性は約 200 倍上昇する¹⁴⁸⁻¹⁵¹⁾。sGC の 2 価ヘム鉄への NO の親和性はきわめて高い ($K_d \sim 10^{-12} \text{M}$) が、酸素は結合しない。また、CO の親和性はきわめて低く ($K_d \sim 10^{-4} \text{M}$)^{150, 152)}、CO 結合による活性化上昇はせいぜい約 4~5 倍程度にすぎない¹⁵³⁾。sGC の還元電位は +187 mV vs SHE と高いため、2 価ヘム鉄が安定で、3 価ヘム鉄へ酸化されにくい¹⁵⁰⁾。一方、細菌においても多くのヘム基盤 NO センサーが存在することが報告されている^{12, 154, 155)}。

7. ヘム基盤 CO センサー

CO は重要なシグナル分子である。CO はヘム鉄を分解するヘム酸素添加酵素 (heme oxygenase : HO)^{127, 156-160)} や、グリシンから¹⁶¹⁾ 合成される。

CO を嫌氣的に代謝する系の転写制御は *CooA* によって

行われる。*CooA* はヘム基盤 CO センサーであり、N 末端ドメインに結合している 2 価ヘム鉄に CO が結合し、その結果 C 末端のタンパク質の構造が変化して DNA に結合する (図1B)^{12, 162-170)}。

シスタチオネン- β -合成酵素 (cystathionine β -synthase : CBS) はピリドキサルリン酸 (pyridoxal phosphate : PLP) 存在下、セリンとホモシステインを縮合させてシスタチオネン、および H₂S の合成を触媒する酵素である¹⁷¹⁻¹⁷⁵⁾。高等動物由来 CBS では、N 末端にヘム鉄が結合しており、ヘム鉄の酸化還元・配位構造の変化により反応が制御される。3 価ヘム鉄が結合した場合活性が最も高い (491 $\mu\text{mol/h/mg}$ タンパク質) が、2 価ヘム鉄に還元されると活性は半分に下がる (241 $\mu\text{mol/h/mg}$ タンパク質)¹⁷³⁾。この半不活性の 2 価ヘム鉄結合型に CO が結合すると活性はさらに低下 (51 $\mu\text{mol/h/mg}$ タンパク質) することから CO センサーといえる。しかし、NO も 2 価ヘム鉄結合へ結合して活性を低下させ、ある条件下では、NO の 2 価ヘム鉄への結合速度は CO に比較して 100 倍以上高く、親和性も 1000 倍以上高い¹⁷⁴⁾。これらのことより、ヘム鉄結合型 CBS はヘムレドックスセンサーであり、CO センサーであり、また、NO センサーでもある。CBS は酸化還元電子が非常に低い (-350 mV) ため 3 価ヘム鉄結合型が安定である¹⁷⁵⁾ (表2)。細胞内での CBS の活性の制御についてさらに詳細な研究が待たれる。

8. おわりに

多くのヘム基盤酸素センサーのガス選択性は低い。すなわち、酸素センサーの 2 価ヘム鉄には酸素以外に、NO、CO なども結合する場合が多い。しかし、ヘム基盤 NO センサーやヘム基盤 CO センサーには、それぞれ、NO や CO が選択的に結合する場合が多い。これは、それぞれのガスの濃度が、細胞内で局所的、および過渡的に微妙に変化することと関係していると推定される。

ヘムセンサーとヘムレドックスセンサーの区別は明瞭ではない。ヘムセンサーで 3 価ヘム鉄と 2 価ヘム鉄との機能や配位構造の違いからヘムレドックスセンサーと示唆されている例もある^{37, 38, 54, 68)}。しかし、これらのヘム鉄の還元過程は研究されておらず、好氣的条件下では 2 価ヘム鉄-O₂ 結合体が生じるし、これは容易に自動酸化されて 3 価ヘム鉄へ変換する可能性も高い。

ヘムセンサーかつヘム基盤 CO センサーには解決すべき問題が残っている。たとえば、NPAS2⁴⁰⁾、Rev-erb β ^{52, 68)}、K⁺チャネル^{58-60, 176, 177)}、E75⁵³⁾、PGRMC1⁷⁵⁾ などでは、これらの機能が 3 価ヘム鉄の結合・解離により制御され、かつ CO によって制御される「ヘムセンサーかつヘム基盤 CO センサー」と報告されている。しかし、CO はタンパク質やアミノ酸と反応せず、金属のみと反応して金属カルボニルを合成する^{161, 178)}。特にヘム鉄では CO は 2 価ヘム鉄にのみ結合し、3 価ヘム鉄とは反応しない。一般に、ヘムタ

ンパク質, 特にヘムセンサーやヘム転送タンパク質では, 3価ヘム鉄の配位構造(軸配位子としてのシステインまたはチロシン)やヘム周辺構造は2価ヘム鉄へ還元された時点で著しく変化するが, それについて十分に検討されていない。また, これらのCOセンサーの多くでは, 3価ヘム鉄を2価ヘム鉄へ還元する還元物質や還元酵素が知られていない。一方, COが生理作用に影響を及ぼすとの報告にも, COと直接相互作用する標的がヘム鉄か他の金属イオンかについては明らかではない^{179, 180)}。

ヘムセンサーやヘム基盤ガスセンサーについて, 細胞・組織レベルの実験系において観測された現象が, 精製標品を対象にして生化学的および物理化学的実験から得られたデータに基づいて積み上げられた理論では矛盾なく説明することが難しい場合もあり, さらに詳細な分子機構の解明に興味を待たれる。今後も, 特に疾病に係る, 多くの興味ある重要な結果が報告されることが期待される。

謝辞

これらのヘムタンパク質の研究に関わってくれた著者のグループの大学院生, 博士研究員, 職員, および他の研究機関の共同研究者の方々に深謝致します。

文 献

- Poulos, T.L. (2014) *Chem. Rev.*, **114**, 3919–3962.
- Voet, D. & Voet, J.G. (2011) In *Biochemistry* 4th ed., pp. 323–358, John Wiley & Sons, New York.
- Reddi, A.R. & Hamza, I. (2016) *Acc. Chem. Res.*, **49**, 1104–1110.
- Roumenina, L.T., Rayes, J., Lacroix-Desmazes, S., & Demitrov, J.D. (2016) *Trends Mol. Med.*, **22**, 200–213.
- Haldar, S.M. & Stamler, J.S. (2013) *J. Clin. Invest.*, **123**, 101–110.
- Yukl, E.T., de Vries, S., & Moënné-Loccoz, P. (2009) *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 7234–7235.
- Corti, P., Xue, J., Tejero, J., Wajih, N., Sun, M., Stolz, D.B., Tsang, M., Kim-Shapiro, D.B., & Gladwin, M.T. (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 8538–8543.
- Hannibal, L., Tomasina, F., Capdevila, D.A., Demicheli, V., Tortóra, V., Alvarez-Raggi, D., Jemmerson, R., Murgida, D.H., & Radi, R. (2016) *Biochemistry*, **55**, 407–428.
- Shimizu, T. (2012) *J. Inorg. Biochem.*, **108**, 171–177.
- Igarashi, J., Kitanishi, K., Martinkova, M., Murase, M., Iizuka, A., & Shimizu, T. (2008) *Acta Chim. Slov.*, **55**, 67–74.
- Igarashi, J., Kitanishi, K., & Shimizu, T. (2011) in *Handbook of Porphyrin Science* (Kadish, K. M., Smith, K. M., & Guillard, R. eds), Vol. 15, Chapter 73, pp. 399–460, World Scientific Publishing, Hackensack, NJ.
- Shimizu, T., Huang, D., Yan, F., Stranova, M., Bartosoa, M., Fojtiková, V., & Martinková, M. (2015) *Chem. Rev.*, **115**, 6491–6533.
- Hanna, D.A., Harvey, R.M., Martinez-Guzman, O., Yuan, X., Chandrasekharan, B., Raju, G., Outten, J.W., Hamza, I., & Reddi, A.R. (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 7539–7544.
- Holcik, M. & Sonenberg, N. (2005) *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **6**, 318–327.
- Chen, J.J. (2000) in *Translational Control of Gene Expression* (Soneberg, N., Hershey, J.W.B., & Mathews, M.B. eds.), pp. 529–546, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
- Zhang, L. & Guarente, L. (1995) *EMBO J.*, **14**, 313–320.
- Igarashi, J., Sato, A., Kitagawa, T., Yoshimura, T., Yamauchi, S., Sagami, I., & Shimizu, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 15752–15762.
- Miksanova, M., Igarashi, J., Minami, M., Sagami, I., Yamauchi, S., Kukukawa, H., & Shimizu, T. (2006) *Biochemistry*, **45**, 9894–9905.
- Igarashi, J., Murase, M., Iizuka, A., Pichierri, F., Martinkova, M., & Shimizu, T. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 18782–18791.
- Carter, E.L., Gupta, N., & Ragsdale, S.W. (2016) *J. Biol. Chem.*, **291**, 2196–2222.
- Schneider, S., Sharp, K.H., Barker, P.D., & Paoli, M. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 32606–32610.
- Watanabe-Matsui, M., Matsumoto, T., Matsui, T., Ikeda-Saito, M., Muto, A., Murayama, K., & Igarashi, K. (2015) *Arch. Biochem. Biophys.*, **565**, 25–31.
- Burton, M.J., Kapetanaki, S.M., Chernova, T., Jamieson, A.G., Dorlet, P., Santolini, J., Moody, P.C.E., Mitcheson, J.S., Davies, N.W., Schmid, R., Raven, E.L., & Storey, N.M. (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 3785–3790.
- Igarashi, J., Sasaki, T., Kobayashi, N., Yoshioka, S., Matsushita, M., & Shimizu, T. (2011) *FEBS J.*, **278**, 918–928.
- Martinkova, M., Igarashi, J., & Shimizu, T. (2007) *FEBS Lett.*, **581**, 4109–4114.
- Faller, M., Matsunaga, M., Yin, S., Loo, J.A., & Guo, F. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 23–29.
- Quick-Cleveland, J., Jacob, J.P., Weitz, S.H., Shoffner, G., Senturia, R., & Guo, F. (2014) *Cell Reports*, **7**, 1994–2005.
- Girvan, H.M., Bradley, J.M., Cheesman, M.R., Kincaid, J.R., Liu, Y., Czarniecki, K., Fisher, K., Ley, D., Rigby, S.E.J., & Munro, A.W. (2016) *Biochemistry*, **55**, 5073–5083.
- Kubota, Y., Nomura, K., Katoh, Y., Yamashita, R., Kaneko, K., & Furuyama, K. (2016) *J. Biol. Chem.*, **291**, 20516–20529.
- Igarashi, K. & Watanabe-Matsui, M. (2014) *Tohoku J. Exp. Med.*, **232**, 229–253.
- Ogawa, K., Sun, J., Taketani, S., Nakajima, O., Nishitani, C., Sassa, S., Hayashi, N., Yamamoto, M., Shibahara, S., Fujita, H., & Igarashi, K. (2001) *EMBO J.*, **20**, 2835–2843.
- Sun, J., Hoshino, H., Takaku, K., Nakajima, O., Muto, A., Suzuki, H., Tashiro, S., Takahashi, S., Shibahara, S., Alam, J., Taketo, M.M., Yamamoto, M., & Igarashi, K. (2002) *EMBO J.*, **21**, 5216–5224.
- Hira, S., Tomita, T., Matsui, T., Igarashi, K., & Ikeda-Saito, M. (2007) *IUBMB Life*, **59**, 542–551.
- Watanabe-Matsui, M., Muto, A., Matsui, T., Itoh-Nakadai, A., Nakajima, O., Murayama, K., Yamamoto, M., Ikeda-Saito, M., & Igarashi, K. (2011) *Blood*, **117**, 5438–5448.
- Shen, J., Sheng, X., Chang, Z., Wu, Q., Wang, S., Xuan, Z., Li, D., Wu, Y., Shang, Y., Kong, X., Yu, L., Li, L., Ruan, K., Hu, H., Huang, Y., Hui, L., Xie, D., Wang, F., & Hu, R. (2014) *Cell Reports*, **7**, 180–193.
- Mourer, T., Jacques, J.-F., Brault, A., Bisailon, M., & Labbé, S. (2015) *J. Biol. Chem.*, **290**, 10176–10190.
- Yin, L., Dragnea, V., & Bauer, C.E. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 13850–13858.
- Tang, K., Knipp, M., Liu, B.-B., Cox, N., Stabel, R., He, Q., Zhou, M., Scheer, H., Zhao, K.-H., & Gärtner, W. (2015) *J. Biol. Chem.*, **290**, 19067–19080.
- Laakso, H.A., Marolda, C.L., Pinter, T.B., Stillman, M.J., &

- Heinrichs, D.E. (2016) *J. Biol. Chem.*, **291**, 29–40.
- 40) Dioum, E.M., Rutter, J., Tuckerman, J.R., Gonzalez, G., Gilles-Gonzalez, M.A., & McKnight, S.L. (2002) *Science*, **298**, 2385–2387.
- 41) Kitanishi, K., Hayasaka, K., Harada, M., Nagata, R., Igarashi, J., & Shimizu, T. (2011) in *Circadian Rhythms: Biology, Cognition and Disorders* (Golovkin, L., & Maliszewicz, A. eds.), pp. 225–245, Nova Sci. Publ., NY.
- 42) Uchida, T., Sato, E., Sato, A., Sagami, I., Shimizu, T., & Kitagawa, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 21358–21368.
- 43) Mukaiyama, Y., Uchida, T., Sato, E., Sasaki, A., Sato, Y., Igarashi, J., Kurokawa, H., Sagami, I., Kitagawa, T., & Shimizu, T. (2006) *FEBS J.*, **273**, 2528–2539.
- 44) Ishida, M., Ueha, T., & Sagami, I. (2008) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **368**, 292–297.
- 45) Yoshii, K., Tajima, F., Ishijima, S., & Sagami, I. (2015) *Biochemistry*, **54**, 250–259.
- 46) Yoshii, K., Ishijima, S., & Sagami, I. (2013) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **437**, 386–391.
- 47) Nagata, R., Harada, M., Kitanishi, K., Igarashi, J., Uchida, T., Ishimori, K., & Shimizu, T. (2011) in *Circadian Rhythms: Biology, Cognition and Disorders* (Golovkin, L., Maliszewicz, A. eds.), pp. 133–160, Nova Sci. Publ., NY.
- 48) Kaasik, K. & Lee, C.C. (2004) *Nature*, **430**, 467–471.
- 49) Kitanishi, K., Igarashi, J., Hayasaka, K., Hikage, N., Saiful, I., Yamauchi, S., Uchida, T., Ishimori, K., & Shimizu, T. (2008) *Biochemistry*, **47**, 6157–6168.
- 50) Hayasaka, K., Kitanishi, K., Igarashi, J., & Shimizu, T. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, **1814**, 326–333.
- 51) Yang, J., Kim, K.D., Lucas, A., Drahos, K.E., Santos, C.S., Mury, S.P., Capelluto, D.G.S., & Finkielstein, C.V. (2008) *Mol. Cell. Biol.*, **28**, 4697–4711.
- 52) Gupta, N. & Ragsdale, S.W. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 4392–4403.
- 53) Marvin, K.A., Reinking, J.L., Lee, A.J., Pardee, K., Krause, H.M., & Burstyn, J.N. (2009) *Biochemistry*, **48**, 7056–7071.
- 54) Reinking, J., Lam, M.M.S., Pardee, K., Sampson, H.M., Liu, S., Yang, P., Williams, S., White, W., Lajoie, G., Edwards, A., & Krause, H.M. (2005) *Cell*, **122**, 195–207.
- 55) de Rosny, E., de Groot, A., Jullian-Binard, C., Gaillard, J., Borel, F., Pebay-Peyroula, E., Fontecilla-Camps, J.C., & Jouve, H. (2006) *Biochemistry*, **45**, 9727–9734.
- 56) Sahoo, N., Goradia, N., Ohlenschläger, O., Schönherr, R., Friedrich, M., Plass, W., Kappl, R., Hoshi, T., & Heinemann, S.H. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, E4036–E4044.
- 57) Tang, X.D., Xu, R., Reynolds, M.F., Carcia, M.L., Heinemann, S.H., & Hoshi, T. (2003) *Nature*, **425**, 531–535.
- 58) Hou, S., Reynolds, M.F., Horrigan, F.T., Heinemann, S.H., & Hoshi, T. (2006) *Acc. Chem. Res.*, **39**, 918–924.
- 59) Yi, L., Morgan, J.T., & Ragsdale, S.W. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 20117–20127.
- 60) Williams, S.E.J., Wootton, P., Mason, H.S., Bould, J., Iles, D.E., Riccardi, D., Peers, C., & Kemp, P.J. (2004) *Science*, **306**, 2093–2097.
- 61) Ishikawa, H., Kato, M., Hori, H., Ishimori, K., Kirisako, T., Tokunaga, F., & Iwai, K. (2005) *Mol. Cell*, **19**, 171–181.
- 62) Kitatsuji, C., Izumi, K., Nambu, S., Kuroguchi, M., Uchida, T., Nishimura, S., Iwai, K., O'Brian, M.R., Ikeda-Saito, M., & Ishimori, K. (2016) *Sci. Rep.*, **6**, 18703.
- 63) Ishikawa, H., Nakagaki, M., Bamba, A., Uchida, T., Hori, H., O'Brian, M.R., Iwai, K., & Ishimori, K. (2011) *Biochemistry*, **50**, 1016–1022.
- 64) Kobayashi, K., Nakagaki, M., Ishikawa, H., Iwai, K., O'Brian, M.R., & Ishimori, K. (2016) *Biochemistry*, **55**, 4047–4054.
- 65) Uchida, T., Sekine, Y., Matsui, T., Ikeda-Saito, M., & Ishimori, K. (2012) *Chem. Commun. (Camb.)*, **48**, 6741–6743.
- 66) Yin, L., Wu, N., Curtin, J.C., Qatanami, M., Szwergold, N.R., Reid, R.A., Waitt, G.M., Parks, D.J., Pearce, K.H., Wisely, G.B., & Lazar, M.A. (2007) *Science*, **318**, 1786–1789.
- 67) Raghuram, S., Stayrook, K.R., Huang, P., Rogers, P.M., Kosie, A.K., McClure, D.B., Burris, L.L., Khorasanizadeh, S., Burris, T.P., & Rastinejad, F. (2007) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 1207–1213.
- 68) Pardee, K.I., Xu, X., Reiking, J., Schuez, A., Dong, A., Liu, S., Zhang, R., Tiefenbach, J., Lajoie, G., Plotnikov, A.N., Botchkarev, A., Krause, H.M., & Edwards, A. (2009) *PLoS Biol.*, **7**, e1000043.
- 69) Sawai, H., Yamanaka, M., Sugimoto, H., Shiro, Y., & Aono, S. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 30755–30768.
- 70) Wakasugi, K. (2007) *Biochemistry*, **46**, 11291–11298.
- 71) Casino, P., Rubio, V., & Marina, A. (2010) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **20**, 763–771.
- 72) Ito, Y., Nakagawa, S., Komagata, A., Ikeda-Saito, M., Shiro, Y., & Nakamura, H. (2009) *FEBS Lett.*, **583**, 2244–2248.
- 73) Bagai, I., Sarangi, R., Fleischhacker, A.S., Sharm, A., Hoffman, B.M., Zuiderweg, E.R.P., & Ragsdale, S.W. (2015) *Biochemistry*, **54**, 2693–2708.
- 74) Fleischhacker, A.S., Sharma, A., Choi, M., Spencer, A.M., Bagai, I., Hoffman, B.M., & Ragsdale, S.W. (2015) *Biochemistry*, **54**, 2709–2718.
- 75) Kabe, Y., Nakane, T., Koike, I., Yamamoto, T., Sugiura, Y., Harada, E., Sugase, K., Shimamura, T., Ohmura, M., Muraoka, K., Yamamoto, A., Uchida, T., Iwata, S., Yamaguchi, Y., Krauhkhina, E., Noda, M., Handa, H., Ishimori, K., Uchiyama, S., Kobayashi, T., & Suematsu, M. (2016) *Nat. Commun.*, **7**, 11030.
- 76) Kanadani, M., Sato, T., Hino, T., Nagano, S., & Ozaki, S. (2015) *J. Inorg. Biochem.*, **151**, 26–33.
- 77) Watanabe, M., Tanaka, Y., Suenaga, A., Kuroda, M., Yao, M., Watanabe, N., Aisaka, F., Ohta, T., Tanaka, I., & Tsumoto, K. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 28649–28659.
- 78) Sekine, Y., Tanzawa, T., Tanaka, Y., Ishimori, K., & Uchida, T. (2016) *Biochemistry*, **55**, 884–893.
- 79) Moriwaki, Y., Terada, T., Caaveiro, J.M.M., Takaoka, Y., Hamachi, I., Tsumoto, K., & Shimizu, K. (2013) *Biochemistry*, **52**, 8866–8877.
- 80) Ozaki, S., Sato, T., Sekine, Y., Migita, C.T., Uchida, T., & Ishimori, K. (2014) *J. Inorg. Biochem.*, **138**, 31–38.
- 81) Smith, A.D., Modi, A.R., Sun, S., Dawson, J.H., & Wilks, A. (2015) *Biochemistry*, **54**, 2601–2612.
- 82) Draganova, E.B., Akbas, N., Adrian, S.A., Lukat-Rodgers, G.S., Collins, D.P., Dawson, J.H., Allen, C.E., Schmitt, M.P., Rodgers, K.R., & Dixon, D.W. (2015) *Biochemistry*, **54**, 6598–6609.
- 83) Burkhard, K.A. & Wilks, A. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 15126–15136.
- 84) Cobessi, D., Meksem, A., & Brillet, K. (2009) *Proteins*, **78**, 286–294.
- 85) Piel, R.B. III, Shiferaw, M.T., Vashisht, A.V., Marcero, J.R., Praissman, J.L., Phillips, J.D., Wohlschlegel, J.A., & Medlock, A.E. (2016) *Biochemistry*, **55**, 5204–5217.
- 86) Kaluka, D., Batabyal, D., Chiang, B.-Y., Poulos, T.L., & Yeh, S.-R. (2015) *Biochemistry*, **54**, 1638–1647.
- 87) Kobayashi, K., Yoshioka, S., Kato, Y., Asano, Y., & Aono, S. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 5486–5490.
- 88) Sawai, H., Sugimoto, H., Kato, Y., Asano, Y., Shiro, T., &

- Aono, S. (2009) *J. Biol. Chem.*, **284**, 32089–32096.
- 89) Beltrán, J., Kloss, B., Hosler, J.P., Geng, J., Liu, A., Modi, A., Dawson, J.H., Sono, M., Shumskaya, M., Ampomah-Dwamena, C., Love, J.D., & Wurtzel, E.T. (2015) *Nat. Chem. Biol.*, **11**, 598–605.
- 90) Uchida, T. & Kitagawa, T. (2005) *Acc. Chem. Res.*, **38**, 662–670.
- 91) Martínková, M., Kitanishi, K., & Shimizu, T. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 27702–27711.
- 92) Henry, J.T. & Crosson, S. (2011) *Annu. Rev. Microbiol.*, **65**, 261–286.
- 93) Hao, B., Isaza, C., Arndt, J., Soltis, M., & Chan, M.K. (2002) *Biochemistry*, **41**, 12952–12958.
- 94) Kurokawa, H., Lee, D.S., Watanabe, M., Sagami, I., Mikami, B., Raman, C.S., & Shimizu, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 20186–20193.
- 95) Park, H., Suquet, C., Satterlee, J.D., & Kang, C. (2004) *Biochemistry*, **43**, 2738–2746.
- 96) Schirmer, T. & Jenal, U. (2009) *Nat. Rev. Microbiol.*, **7**, 724–735.
- 97) Delgado-Nixon, V.M., Gonzalez, G., & Gilles-Gonzalez, M.A. (2000) *Biochemistry*, **39**, 2685–2691.
- 98) Shimizu, T. (2013) *Biosensor*, **3**, 211–237.
- 99) Sasakura, Y., Yoshimura-Suzuki, T., Kurokawa, H., & Shimizu, T. (2006) *Acc. Chem. Res.*, **39**, 37–43.
- 100) Tanaka, A., Takahashi, H., & Shimizu, T. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 21301–21307.
- 101) Tanaka, A. & Shimizu, T. (2008) *Biochemistry*, **47**, 13438–13446.
- 102) Ishitsuka, Y., Araki, Y., Tanaka, A., Igarashi, J., Ito, O., & Shimizu, T. (2008) *Biochemistry*, **47**, 8874–8884.
- 103) Taguchi, S., Matsui, T., Igarashi, J., Sasakura, Y., Araki, Y., Ito, O., Sugiyama, S., Sagami, I., & Shimizu, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 3340–3347.
- 104) Yamashita, T., Bouzahir-Sima, L., Lambry, J.C., Liebl, U., & Vos, M.H. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 2344–2352.
- 105) Hirata, S., Matsui, T., Sasakura, Y., Sugiyama, S., Yoshimura, T., Sagami, I., & Shimizu, T. (2003) *Eur. J. Biochem.*, **270**, 4771–4779.
- 106) Sato, A., Sasakura, Y., Sugiyama, S., Sagami, I., Shimizu, T., Mizutani, Y., & Kitagawa, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 32650–32658.
- 107) El-Mashtoly, S.F., Nakashima, S., Tanaka, A., Shimizu, T., & Kitagawa, T. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 19000–19010.
- 108) El-Mashtoly, S.F., Takahashi, H., Shimizu, T., & Kitagawa, T. (2007) *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 3556–3563.
- 109) Sasakura, Y., Hirata, S., Sugiyama, S., Suzuki, S., Taguchi, S., Watanabe, M., Matsui, T., Sagami, I., & Shimizu, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 23821–23827.
- 110) Yoshimura, T., Sagami, I., Sasakura, Y., & Shimizu, T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 53105–53111.
- 111) Yoshimura-Suzuki, T., Sagami, I., Yokota, N., Kurokawa, H., & Shimizu, T. (2005) *J. Bacteriol.*, **187**, 6678–6682.
- 112) Gilles-Gonzalez, M.A., Ditta, G.S., & Helinski, D.R. (1991) *Nature*, **350**, 170–172.
- 113) Gilles-Gonzalez, M.A., Gonzalez, G., Perutz, M.F., Kiger, L., Marden, M.C., & Poyart, C. (1994) *Biochemistry*, **33**, 8067–8073.
- 114) Miyatake, H., Mukai, M., Adachi, S., Nakamura, H., Tamura, K., Iizuka, T., Shiro, Y., Strange, R.W., & Hasnain, S.S. (1999) *J. Biol. Chem.*, **274**, 23176–23184.
- 115) Miyatake, H., Mukai, M., Park, S.-Y., Adachi, S., Tamura, K., Nakamura, H., Nakamura, K., Tsuchiya, T., Iizuka, T., & Shiro, Y. (2000) *J. Mol. Biol.*, **301**, 415–431.
- 116) Nakamura, H., Kumita, H., Imai, K., Iizuka, T., & Shiro, Y. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 2742–2746.
- 117) Tanaka, A., Nakamura, H., Shiro, Y., & Fujii, H. (2006) *Biochemistry*, **45**, 2515–2523.
- 118) Yamawaki, T., Ishikawa, H., Mizuno, M., Nakamura, H., Shiro, Y., & Mizutani, Y. (2016) *Biochemistry*, **55**, 4027–4035.
- 119) Chang, A.L., Tuckerman, J.R., Gonzalez, G., Mayer, R., Weinhouse, H., Volman, G., Amikam, D., Benziman, M., & Gilles-Gonzalez, M.A. (2001) *Biochemistry*, **40**, 3420–3426.
- 120) Sawai, H., Sugimoto, H., Shiro, Y., Ishikawa, H., Mizutani, Y., & Aono, S. (2012) *Chem. Commun. (Camb.)*, **48**, 6523–6525.
- 121) Kitanishi, K., Kobayashi, K., Kawamura, Y., Ishigami, I., Ogura, T., Nakajima, K., Igarashi, J., Tanaka, A., & Shimizu, T. (2010) *Biochemistry*, **49**, 10381–10393.
- 122) Tuckerman, J.R., Gonzalez, G., Sousa, E.H.S., Wan, X., Saito, J.A., Alam, M., & Gilles-Gonzalez, M.A. (2009) *Biochemistry*, **48**, 9764–9774.
- 123) Nakajima, K., Kitanishi, K., Kobayashi, K., Kobayashi, N., Igarashi, J., & Shimizu, T. (2012) *J. Inorg. Biochem.*, **108**, 163–170.
- 124) Lambry, J.C., Stranova, M., Lobato, L., Martinkova, M., Shimizu, T., Lieble, U., & Vos, M.H. (2016) *J. Phys. Chem. Lett.*, **7**, 69–74.
- 125) Pavlou, A., Martínková, M., Shimizu, T., Kitanishi, K., Stranova, M., Loullis, A., & Pinakoulaki, E. (2015) *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **17**, 17007–17015.
- 126) Stranova, M., Martínková, M., Stiborová, M., Man, P., Kitanishi, K., Muchová, L., Vitek, L., Martinek, V., & Shimizu, T. (2014) *J. Inorg. Biochem.*, **140**, 29–38.
- 127) Matsui, T., Iwasaki, M., Sugiyama, R., Unno, M., & Ikeda-Saito, M. (2010) *Inorg. Chem.*, **49**, 3602–3609.
- 128) Kitanishi, K., Kobayashi, K., Uchida, T., Ishimori, K., Igarashi, J., & Shimizu, T. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 35522–35534.
- 129) Fojtikova, V., Stranova, M., Vos, M.H., Liebl, U., Hranicek, J., Kitanishi, K., Shimizu, T., & Martinkova, M. (2015) *Biochemistry*, **54**, 5017–5029.
- 130) Stranova, M., Martinek, V., Man, P., Fojtikova, V., Kavan, D., Vaněk, O., Shimizu, T., & Martinkova, M. (2016) *Proteins*, **84**, 1375–1389.
- 131) Hou, S., Larsen, R.W., Boudko, D., Riley, C.W., Karatan, E., Zimmer, M., Ordal, G.W., & Alam, M. (2000) *Nature*, **403**, 540–544.
- 132) Hou, S., Freitas, T., Larsen, R.W., Piatibratov, M., Sivozhlezov, V., Yamamoto, A., Meleshkevitch, E.A., Zimmer, M., Ordal, G.W., & Alam, M. (2001) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 9353–9358.
- 133) El-Mashtoly, S.F., Kubo, M., Gu, Y., Sawai, H., Nakajima, S., Ogura, T., Aono, S., & Kitagawa, T. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 19973–19984.
- 134) Yoshimura, H., Yoshioka, S., Kobayashi, K., Ohta, T., Uchida, T., Kubo, M., Kitagawa, T., & Aono, S. (2006) *Biochemistry*, **45**, 8301–8307.
- 135) Aono, S., Kato, T., Matsuki, M., Nakajima, H., Ohta, T., Uchida, T., & Kitagawa, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 13528–13538.
- 136) Sawai, H., Yoshioka, S., Uchida, T., Hyodo, M., Hayakawa, Y., Ishimori, K., & Aono, S. (2010) *Biochim. Biophys. Acta*, **1804**, 166–172.
- 137) Santara, S.S., Roy, J., Mukherjee, S., Rose, M., Saha, R., & Adak, S. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 16790–16795.
- 138) Burns, J.L., Deer, D.D., & Weinert, E.E. (2014) *Mol. Biosyst.*

- 10, 2823–2826.
- 139) Jia, X., Wang, J., Rivera, S., Duong, D., & Weinert, E.E. (2016) *Nat. Commun.*, **7**, 12381.
- 140) Burns, J.L., Rivera, S., Deer, D.D., Joynt, S.C., Dvorak, D., & Weinert, E.E. (2016) *Biochemistry*, **55**, 6642–6651.
- 141) Podust, L.M., Ioanoviciu, A., & Ortiz de Montellano, P.R. (2008) *Biochemistry*, **47**, 12523–12531.
- 142) Kumar, A., Toledo, J.C., Patel, R.P., Lancaster, J.R. Jr., & Steyn, A.J.C. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 11568–11573.
- 143) Sousa, E.H.S., Tuckerman, J.R., Gonzalez, G., & Gilles-Gonzalez, M.A. (2007) *Protein Sci.*, **16**, 1708–1719.
- 144) Basudhar, D., Madrona, Y., Yukl, E.T., Sivaramakrishnan, S., Nishida, C.R., Moënné-Loccoz, P., & Ortiz de Montellano, P.R. (2016) *J. Biol. Chem.*, **291**, 16100–16111.
- 145) Cary, S.P.L., Winger, J.A., Derbyshire, E.R., & Marletta, M.A. (2006) *Trends Biochem. Sci.*, **31**, 231–239.
- 146) Sagami, I., Daff, S., & Shimizu, T. (2001) *J. Biol. Chem.*, **276**, 30036–30042.
- 147) Sato, Y., Sagami, I., & Shimizu, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 8827–8836.
- 148) Derbyshire, E.R. & Marletta, M.A. (2012) *Annu. Rev. Biochem.*, **81**, 533–559.
- 149) Yazawa, S., Tsuchiya, H., Hori, H., & Makino, R. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 21763–21770.
- 150) Makino, R., Park, S.-Y., Obayashi, E., Iizuka, T., Hori, H., & Shiro, Y. (2011) *J. Biol. Chem.*, **286**, 15678–15687.
- 151) Makino, R., Yazawa, S., Hori, H., & Shiro, Y. (2012) *Biochemistry*, **51**, 9277–9289.
- 152) Martin, E., Berka, V., Bogatenkova, E., Murad, F., & Tsai, A.-L. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 27836–27845.
- 153) Stone, J.R. & Marketta, M.A. (1994) *Biochemistry*, **33**, 5636–5640.
- 154) Plate, L. & Marletta, M.A. (2013) *Trends Biochem. Sci.*, **38**, 566–575.
- 155) Nisbett, L.-M. & Boon, E.M. (2016) *Biochemistry*, **55**, 4873–4884.
- 156) Takeda, T., Mu, A., Tai, T.T., Kajima, S., & Taketani, S. (2015) *Sci. Rep.*, **5**, 10488.
- 157) Liem, P.H., Mu, A., Kikuta, S., Ohta, K., Kitajima, S., & Taketani, S. (2015) *Biol. Chem.*, **396**, 1265–1268.
- 158) Matsui, T., Nambu, S., Goulding, C.W., Takahashi, S., Fujii, H., & Ikeda-Saito, M. (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 3779–3784.
- 159) Sugishima, H., Sato, H., Higashimoto, Y., Harada, J., Wada, K., Fukuyama, K., & Noguchi, M. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 2524–2529.
- 160) Sugishima, M., Moffat, K., & Noguchi, M. (2012) *Biochemistry*, **51**, 8554–8562.
- 161) Bürstel, I., Siebert, E., Frielingsdorf, S., Zebger, I., Friedrich, B., & Lenz, O. (2016) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **113**, 14722–14726.
- 162) Shelver, D., Kerby, R.L., He, Y., & Roberts, G.P. (1997) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 11216–11220.
- 163) Aono, S. (2003) *Acc. Chem. Res.*, **36**, 825–831.
- 164) Roberts, G.P., Kerby, R.L., Youn, H., & Conrad, M. (2005) *J. Inorg. Biochem.*, **99**, 280–292.
- 165) Lanzilotta, W.N., Schuller, D.J., Thorsteinsson, M.V., Kerby, R.L., Roberts, G.P., & Poulos, T.L. (2000) *Nat. Struct. Biol.*, **7**, 876–880.
- 166) Yamashita, T., Hoashi, Y., Watanabe, K., Tomisugi, Y., Ishikawa, Y., & Uno, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 21394–21400.
- 167) Yamashita, T., Hoashi, Y., Tomisugi, Y., Ishikawa, Y., & Uno, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 47320–47325.
- 168) Kubo, M., Inagaki, S., Yoshioka, S., Uchida, T., Mizutani, Y., Aono, S., & Kitagawa, T. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 11271–11278.
- 169) Komori, H., Inagaki, S., Yoshioka, S., Aono, S., & Higuchi, Y. (2007) *J. Mol. Biol.*, **367**, 864–871.
- 170) Inagaki, S., Masuda, C., Akaiishi, T., Nakajima, H., Yoshioka, S., Ohta, T., Pal, B., Kitagawa, T., & Aono, S. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 3269–3274.
- 171) Singh, S. & Banerjee, R. (2011) *Biochim. Biophys. Acta*, **1814**, 1518–1527.
- 172) Kabil, O. & Banerjee, R. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 21903–21907.
- 173) Yadav, P.K., Xie, P., & Banerjee, R. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 37611–37620.
- 174) Vicente, J.B., Colaço, H.G., Mendes, M.I.S., Sarti, P., Leandro, P., & Giuffrè, A. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 8579–8587.
- 175) Kabil, O., Weeks, C.L., Carballal, S., Gherasim, C., Alvarez, B., Spiro, T.G., & Banerjee, R. (2011) *Biochemistry*, **50**, 8261–8263.
- 176) Hou, S., Xu, R., Haineman, S.H., & Hoshi, T. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 4039–4043.
- 177) Al-Owais, M.M.A., Scragg, J.L., Dallas, M.L., Boycott, H.E., Warburton, P., Chakrabarty, A., Boyle, J.P., & Peers, C. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 24754–24764.
- 178) Spatzal, T., Perez, K.A., Einsle, O., Howard, J.B., & Rees, D.C. (2014) *Science*, **345**, 1620–1623.
- 179) Elies, J., Dallas, M.L., Boyle, J.P., Scragg, J.L., Duke, A., Steel, D.S., & Peers, C. (2014) *J. Biol. Chem.*, **289**, 16421–16429.
- 180) Klemz, R., Reischl, S., Wallach, T., Witte, N., Jürchotte, K., Klemz, S., Lang, V., Lorenzen, S., Knauer, M., Heidenreich, S., Xu, M., Ripperger, J.A., Schupp, M., Stanewsky, R., & Kramer, A. (2016) *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **24**, 15–22.
- 181) Honorio-Felício, N., Carepo, M.S.P., Paulo, T.F., Gonzaga, L., Lopes, L.G.F., Sousa, E.H.S., Diógenes, I.C.N., & Bernhardt, P.V. (2016) *J. Inorg. Biochem.*, **164**, 34–41.

著者寸描

●清水 透 (しみず とおる)

東北大学名誉教授、カレル大学 (Charles University in Prague) 理学部客員教授 (チェコ共和国)、ヤギェウオ大学 (Jagiellonian University) 医工学部客員教授 (ポーランド)、汕頭大学医学部 (Shantou University Medical College) 客員教授 (中国)、および国立研究開発法人・産業技術総合研究所 (AIST) 客員研究員、理学博士。

■略歴 1947年京都市に生る。70年東北大学理学部化学科卒業、76年同大学院理学研究科博士課程修了。米国A. アイ

シュタイン医科大学、および慶應義塾大学医学部を経て、94年東北大学教授、2012年より現職。元 *J. Biol. Chem.* の Editorial Board、および *Biochem. J.* の Editorial Advisory Panel。

■研究テーマと抱負 ヘムセンサーの構造と機能の関係について、海外での講義や若い人達との研究を楽しんでいる。頭脳の退化を遅らせるために、最新の論文に目を通し、海外から申請された研究費や投稿論文の審査などを積極的に引き受けている。

■趣味 散歩、音楽鑑賞、旅行。