

城 宜嗣

兵庫県立大学大学院生命理学研究科

兵庫県赤穂郡上郡町光都 3-2-1

yshiro@sci.u-hyogo.ac、yshiro@riken.jp



一酸化窒素還元酵素：構造ならび反応機構解析

嫌気性細菌の一酸化窒素還元酵素（Nitric Oxide Reductases: NOR）は、嫌気呼吸の一種である脱窒（denitrification）において反応中間体として産生される細胞毒性の高い一酸化窒素（NO）を無毒化する酵素である（ $2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ ）。また、いくつかの病原菌も、感染宿主の免疫系が産生する抗菌ガス NO を無毒化し自らの身を守る為に、NOR を有している。

1. クライオ電子顕微鏡を用いた髄膜炎菌の一酸化窒素還元酵素の構造解析

今まで報告してきた全ての NOR の結晶構造(単量体)とは異なる、NOR 二量体の構造を決定した(図1)。二量体は単量体に比べて遥かに酵素活性が高く、病原菌内での構造を反映していると考えられた。さらに、電子供与体であるキノールの類縁体や亜鉛による酵素活性阻害の効果も議論した。

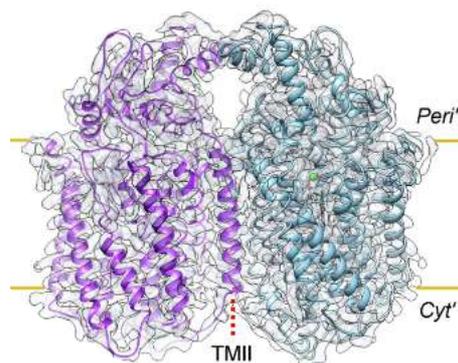


図1 髄膜炎菌 NOR の二量体構造

2. 時間分解分光法とクライオフォトリス ESR 法を用いた、一酸化窒素還元酵素の短寿命反応中間体の配位構造解析

速度論的解析により、NOR による NO 還元反応は、2つの短寿命反応中間体（寿命が十m秒と数百m秒）の生成を経て、三段階で進行する事を明らかにした。反応中間体1に関しては、時分割赤外分光法による N-O 伸縮振動（ 1683 cm^{-1} ）とクライオフォトリス ESR 法による $g=4.13$ と 3.94 のシグナルの観測に成功し、1分子の NO が非ヘム鉄（ Fe_B ）に配位した構造であると決定した。反応中間体2に関しては同様な手法で、現在解析中である。以上の結果を

基に、NOR による NO 還元の分子機構を提案した(図2)。

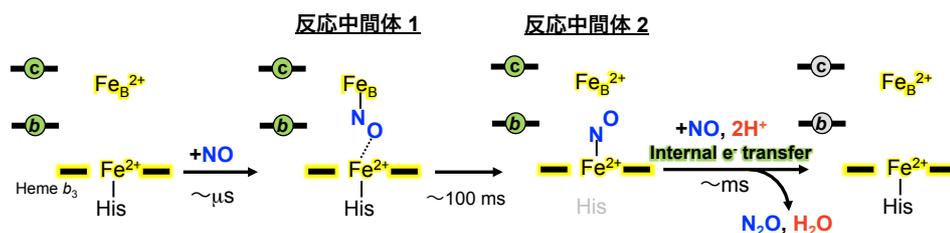


図2 提案した NOR による NO 還元反応の分子機構