

一酸化窒素還元から酸素還元への変換による呼吸酵素の分子進化

メタデータ	言語: jpn
	出版者:
	公開日: 2021-02-22
	キーワード (Ja):
	キーワード (En):
	作成者: Sakurai, Takeshi
	メールアドレス:
	所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00060425

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



◀ Back to previous page

一酸化窒素還元から酸素還元への変換による呼吸酵素の分子進化

Research Project

Project/Area Number	16655069
Research Category	Grant-in-Aid for Exploratory Research
Allocation Type	Single-year Grants
Research Field	Chemistry related to living body
Research Institution	Kanazawa University
Principal Investigator	櫻井 武 金沢大学, 自然科学研究科, 教授 (90116038)
Co-Investigator(Kenkyū-buntansha)	片岡 邦重 金沢大学, 自然科学研究科, 助教授 (40252712)
Project Period (FY)	2004 – 2005
Project Status	Completed (Fiscal Year 2005)
Budget Amount *help	¥2,800,000 (Direct Cost: ¥2,800,000) Fiscal Year 2005: ¥1,100,000 (Direct Cost: ¥1,100,000) Fiscal Year 2004: ¥1,700,000 (Direct Cost: ¥1,700,000)

Keywords 一酸化窒素 / 一酸化窒素還元酵素 / 分子進化 / キメラ / 組換え体 / ミュータント / 酸素還元 / 膜タンパク質 / 脱窒 / 嫌気呼吸 / 好気呼吸

Research Abstract 脱窒菌Halomonas halodenitrificansはヘムcを有する小サブユニットNorCと低スピンヘムb,高スピンヘムb_3および非ヘム鉄を有する大サブユニットNorBからなるヘテロダイマーコンプレックスである。大腸菌を宿主としてNorCを異種発現したところ,N末の膜アンカーが切断された状態で発現したが,ヘムcを含む部分には影響なく,電子移動機能を有していた。同様に,NorBを大腸菌を宿主として異種発現させたが,一酸化窒素還元機能は示さず,サブユニットの個別発現には成功しなかった。そこで,NorBの発現には,成熟酵素には存在しないORFがコードするNorQ, NorDが関係すると考え,この遺伝子も含めて発現系を構築したが,機能のある酵素は発現しなかった。次いで,H.halodenitrificans遺伝子がコードする総てのNOR遺伝子,NorC, NorB, NorQ, NorDを含んだ異種発現系を構築したところ,オーセンティックなNorと同じ吸収,MCD, ESRスペクトルを示す組換え体が得られた。この組換え体のNO還元活性を測定したところ,微弱ながら,活性を示し,世界で初めてNorの異種発現に成功した。次いで,Norが末端酸化酵素へと分子進化する過程を再現するため,非ヘム鉄を銅結合部位に変異させることを計画し,Norとチトクロムオキシダーゼのキメラ酵素の作成を試みたが,キメラ酵素は高次構造を適切にとることが出来なかった。この解決方法として,組換え体を点変異させることが計画されるが,異種発現体は酵素の収量が低いことから,研究期間内ではミュータントの作成までには至らなかった。異種及び同種発現によるミュータント作成は新しい大きなテーマとして設定する計画である。

Report (2 results)

2005 Annual Research Report

2004 Annual Research Report

Research Products (2 results)

All	2005	Other
All	Journal Article	

[Journal Article] Diverse NO Reduction by Halomonas halodenitrificans Nitric Oxide Reductase

2005 ▼

[Journal Article] Nitric Oxide Reductase in the Forms Different from the Resting Form and Reactions with Nitric Oxide

▼

URL:

Published: 2004-03-31 Modified: 2016-04-21