

一酸化窒素還元酵素の活性中心構造と触媒反応機構の解明

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-05-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: Kataoka, Kunishige メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00061155

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



[◀ Back to previous page](#)

一酸化窒素還元酵素の活性中心構造と触媒反応機構の解明

Research Project

Project/Area Number	14780487
Research Category	Grant-in-Aid for Young Scientists (B)
Allocation Type	Single-year Grants
Research Field	Functional biochemistry
Research Institution	Kanazawa University
Principal Investigator	片岡 邦重 金沢大学, 理学部, 講師 (40252712)
Project Period (FY)	2002 - 2003
Project Status	Completed (Fiscal Year 2003)
Budget Amount *help	¥3,500,000 (Direct Cost: ¥3,500,000) Fiscal Year 2003: ¥1,000,000 (Direct Cost: ¥1,000,000) Fiscal Year 2002: ¥2,500,000 (Direct Cost: ¥2,500,000)

All

Keywords 一酸化窒素還元酵素 / マルチヘムタンパク質 / 呼吸系膜エネルギー装置 / 異種発現系

Research Abstract Halomonas halodenitrificans(旧称Palacoccus halodenitrificans)由来の一酸化窒素還元酵素(NOR)の活性中心を含むNorBサブユニットをコードするnorB遺伝子をpTrc99Aベクターのtrcプロモーター制御下に連結した発現プラスミドを作製し、ヘム合成能が増強された大腸菌Escherichia coli JCB7120株をホストに用いてNorBサブユニットの異種発現を行った。嫌気培養によりNorBを発現させた菌体から超音波破碎と超遠心分離により膜画分を調整し、Nonyl-β-D-glucosideを用いて膜タンパク質を可溶化後、陰イオン交換クロマトグラフィーにより組換え型NorBを部分精製し、その分光学的性質を野生型NORと比較した。NorB部分精製標品の吸収スペクトルでは還元型で558,527,422nmにそれぞれα,β,γ吸収帯を示し、MCDスペクトルでは酸化体のソーレ領域(420nm)と還元型のQバンド領域(560nm)に低スピンヘム鉄の吸収と、還元型のソーレ領域(430nm)に高スピンヘム鉄に特徴的な吸収が観察された。これらの吸収は野生型NORの低スピンヘムbおよび高スピンヘムb₃の吸収とよく類似していた。従って大腸菌で異種発現した組換え型NorBは野生型NORと同様に2種のB型ヘムを含むことが明らかになった。また、組換え型NorBのESRスペクトルではg=3.14,2.27に低スピンヘム鉄(III)に特徴的な斜方対称のシグナルと、g=5.99に高スピンヘム鉄(III)のシグナルが確認できたが、非ヘム鉄の存在を示唆するg=4.26のシグナル強度が野生型NORの対応するシグナルより強く、ヘムb₃-非ヘム鉄からなる複核中心の酸素架橋構造に違いがあると考えられる。

Report (2 results)

[2003 Annual Research Report](#)[2002 Annual Research Report](#)URL: <https://kaken.nii.ac.jp/grant/KAKENHI-PROJECT-14780487/>

Published: 2002-03-31 Modified: 2016-04-21