

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) A	海洋から放出される温室効果ガス亜酸化窒素の生成機構の解明				
研究テーマ (欧文) A	Studies on the mechanism of N ₂ O generation from the ocean				
研究氏 代表者 名	カナ C C	姓) フジワラ	名) タケトモ	研究期間 B	2011~2012年
	漢字 C B	藤原	健智	報告年度 Y R	2013年
	ローマ字 C Z	Fujiwara	Taketomo	研究機関名	静岡大学
研究代表者 C D 所属機関・職名	藤原健智 静岡大学院 理学研究科 生物科学・教授				

概要 E A (600字~800字程度にまとめてください。)

微量大気成分の一つである亜酸化窒素 (N₂O) は CO₂ やメタンと並ぶ温室効果ガスであり、また強力なオゾン破壊作用を持つ。N₂O の主たる放出源は海洋であり、アンモニア酸化細菌 (AOB) の作用によって生成するとされている。本研究は、海洋性 AOB による N₂O 生成のメカニズムを生化学レベルで明らかにすることを目的として行った。まず海洋性 AOB の一種 *Nitrosomonas cryotolerans* を培養し、培養菌体から HAO と呼ばれる酵素タンパク質を精製し、またその遺伝子構造を解析した (EMBL: HF586421)。HAO は AOB によるアンモニア酸化作用の中核を担う酵素であり、ヒドロキシルアミンを亜硝酸塩に変換する反応を触媒する。精製 HAO を用いた解析の結果、基質過剰の条件の下では、HAO がヒドロキシルアミンを N₂O に変換する酵素活性を示すことを見出した (湯浅ら、学会報告)。この反応条件は、低酸素濃度あるいはアンモニア過多の環境で AOB を培養することに相当する。他の海洋性 AOB である *Nitrosococcus oceani* NS58 を用いた解析によっても同様の結果が得られている (Yamazaki *et al.* submitted)。この研究から、海洋環境における、AOB による N₂O の生成のメカニズムに関する手掛かりが得られた。また、*N. oceani* NS58 から精製された HAO (Hozuki *et al.* 2010) の結晶化と X 線構造解析を進めている。すでに、2.0 Å という高い分解能で mature 酵素の構造解析に成功している (Nishigaya *et al.* in prep.)。さらに、種々の阻害剤結合状態の構造も得られつつあり (図 1)、HAO による N₂O 生成反応を、酵素の分子構造のレベルで理解することが可能になるものと期待している。

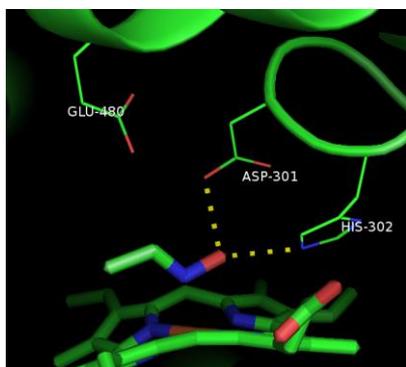


図 1. *N. oceani* NS58 HAO の活性中心 P468 に結合したアセトアルドキシム (CH₃CH=N-OH) 分子。

キーワード F A	亜酸化窒素	温室効果	アンモニア酸化細菌	HAO
-----------	-------	------	-----------	-----

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード T A					研究課題番号 A A								
研究機関番号 A C					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^G _B	Isotopomeric characterization of nitrous oxide produced by reaction of enzymes extracted from nitrifying and denitrifying bacteria							
	著者名 ^{GA}	T. Yamazaki, T. Hozuki, K. Arai, S. Toyoda, K. Koba, T. Fujiwara, and N. Yoshida	雑誌名 ^{GC}	Biogeosciences					
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	submitted
雑誌	論文標題 ^G _B								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^G _B								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^H	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^H	

欧文概要 E Z Nitric oxide (N₂O), one of atmospheric trace species, is a significant greenhouse gas and also contribute strongly to ozone depletion. The ocean is a main source of N₂O, where N₂O is generated during the nitrification process by ammonia-oxidizing bacteria (AOB). The aim of this study is to elucidate the biochemical mechanism of N₂O generation by marine AOB. HAO, the AOB-specific enzyme, was purified from *Nitrosomonas cryotolerans*, and its DNA sequence was determined (EMBL: HF586421). HAO is a significant enzyme for ammonia-oxidation in AOB, catalyzing conversion of hydroxylamine to nitrite. Enzymatic analysis by using the purified HAO, it was demonstrated that the enzyme possessed N₂O generating activity under condition of excess-substrate (Yuasa *et al.* conference presentation). The condition of reaction probably correspond to cultivating the AOB under low-oxygen tension or excess-ammonia. Similar result has already been obtained in the former investigation using the other marine AOB, *Nitrosococcus oceani* NS58 (Yamazaki *et al.* submitted). The present result provides clues to the mechanism of microbial N₂O-generation in the ocean environment. Additionally, X-ray structural analysis of the NS58 HAO crystal is now in progress (Hozuki *et al.* 2010). Crystal structure of the mature state enzyme is already obtained with 2.0 Å resolution (Nishigaya *et al.* in prep.). Structures of the HAO molecule complexed with several inhibitors are also resolved (see Fig. 1 in GAI-YOH). Resolving the structure of HAO molecule will make it possible to understand the catalytic mechanism of N₂O-generation.