

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) AB		微生物を利用したアルコール制御 N ₂ O 浄化システムの開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Studies on bacterial N ₂ O-elimination controlled by alcohol			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) スズキ	名) シンイチロウ	研究期間 B	2004 ~ 2005 年
	漢字 CB	鈴木	晋一郎	報告年度 YR	2006 年
	ローマ字 CZ	SUZUKI	Shinnichiro	研究機関名	大阪大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		理学研究科化学専攻・教授			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。) 本研究は、申請者らがこれまでに研究を行って来たアルコール資化性脱窒菌、<i>Hyphomicrobium denitrificans</i>(アルコールを取り込んで炭素源とし、脱窒する)に着目し、その機能増加をさせて N₂O 浄化に応用するものである。そのため、まずこの菌体からの本研究の key enzyme、亜酸化窒素還元酵素(N₂OR)の X 線結晶構造解析を試みた。HdN₂OR を pH 6.5 において結晶化することに成功し、分解能 2.5 Å で X 線結晶構造解析を行った。この酵素は、これまでに報告のある3つの N₂OR と同様な二量体構造で、一つのサブユニット(584 アミノ酸残基からなる)は2種類の銅活性中心、Cu_A(複核銅部位)、Cu_Z(4核銅部位)を有していた。1つのサブユニット中の Cu_A と Cu_Z は 40 Å 離れているが、隣のサブユニットの銅部位との距離は短い。すなわち、Cu_A と隣のサブユニットの Cu_Z との距離は 10 Å である。従って、電子供与体である HdCyt c₅₅₀ からの電子は、Cu_A 部位で受け取られるが、10 Å 離れている隣のサブユニットの Cu_Z 部位に渡され(分子間電子移動)、N₂O が N₂ に還元されると考えられた(論文作成中)。 一方、アルコール脱水素酵素ならびに HdCyt c_L の X 線結晶構造解析も既に行い、それらの立体構造も明らかにしている(発表論文参照)、本研究における電子伝達系に関与する全ての分子構造を明らかにしたことになる。HdN₂OR の組換え体の発現系構築は、まず最初に大腸菌を用いた系で試された。その結果、封入体として大量に発現することが分かり、それは上述の立体構造情報から本酵素が持つ極めて特異な Cu_A ならびに Cu_Z 構造が原因であると考察された。現在、その特異部位構築のための分子シャペロンをクローニングしている途中であり、それが得られると大量に HdN₂OR 組換え体が生産できると期待される。					
キーワード FA		亜酸化窒素還元酵素	亜酸化窒素	メタノール脱水素酵素	C1 資化性脱窒菌

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					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 _{GB}	Crystal Structures of Cytochrome c_L and Methanol Dehydrogenase from <i>Hyphomicrobium denitrificans</i> : Structural and Mechanistic Insights into Interactions between the Two Proteins							
	著者名 _{GA}	Masaki Nojiri et al	雑誌名 _{GC}	Biochemistry					
	ページ _{GF}	3481~3492	発行年 _{GE}	2	0	0	6	巻号 _{GD}	45
雑誌	論文標題 _{GB}								
	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 _{GB}								
	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 _{HE}	
図書	著者名 _{HA}								
	書名 _{HC}								
	出版者 _{HB}		発行年 _{HD}					総ページ _{HE}	

欧文概要_{EZ}

We have proposed the N_2O -elimination using a methylotrophic denitrifying bacterium, *Hyphomicrobium denitrificans*, which uses methanol as a carbon source and carries out denitrification. At the first step, the crystal structure of *Hyphomicrobium* nitrite reductase (HdN₂OR) has been analyzed at 2.5-Å resolution. Homodimeric HdN₂OR contains binuclear Cu center (Cu_A) and tetranuclear Cu center (Cu_Z) per one subunit composed of 584 amino acid residues, which is essentially similar to three N₂ORs so far reported. Since the distance of these Cu centers is about 40 Å, the Cu_A center receives an electron from an electron donor protein and transfers it to the Cu_Z center, which is located in the other subunit and about 10 Å distant from the Cu_A center. In the next step, it was difficult to obtain the recombinant of HdN₂OR by using *E. coil*, because the enzyme has the complicated binuclear Cu_A and tetranuclear Cu_Z centers. Therefore, for the preparation of the recombinant, cloning of the chaperon genes of the Cu_A and Cu_Z centers is in progress.