

令和 5 年 6 月 5 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H00926

研究課題名(和文) 時間分解構造解析を活用した一酸化窒素還元酵素の構造ダイナミクス研究

研究課題名(英文) Structural Dynamics of Nitric Oxide Reductases Studied by Time-Resolved Techniques

研究代表者

城 宜嗣 (Shiro, Yoshitsugu)

兵庫県立大学・理学研究科・特任教授

研究者番号：70183051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 34,700,000円

研究成果の概要(和文)：膜結合型一酸化窒素還元酵素NORは、活性中心にヘム鉄と非ヘム鉄の複核中心を有し、嫌気呼吸の一種である脱窒において、その反応進行の鍵となる一酸化窒素NO還元反応を触媒する酵素である。また、病原菌の生活環においても重要な役割を果たしていることも知られている。本研究では、髄膜炎菌のqNORの単量体と二量体の分子構造を低温電子顕微鏡法で明らかにした。また、qNORと阻害剤との反応ならびに複合体の構造を詳細に解析した。緑膿菌のcNORとNOの反応を、時分割可視・赤外分光法を用いて詳細に解析し、NO還元反応の分子機構を確定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

髄膜炎菌のqNORは、菌が宿主内でバイオフィーム内で嫌気呼吸をおこない、なおかつ宿主が産生する抗菌ガスNOを無毒化する上で、鍵となる酵素である。本研究で分子構造と反応プロトンの移動との関係、阻害剤との相互作用の詳細が明らかになったことにより、抗菌薬設計の基礎データとなる。また、緑膿菌cNORを用いた反応解析から、酵素反応の分子機構が提案でき、好気呼吸酵素との比較が可能となり、呼吸酵素の分子進化を議論できるようになった。さらに、NOR反応の生成物が、地球環境破壊に関係していることから、環境科学の観点からも今後注目される成果となった。

研究成果の概要(英文)：Membrane-bound nitric oxide reductases (NORs), which have a binuclear complex of heme and non-heme irons at the active center, are key enzymes in anaerobic respiration, denitrification, since they catalyze reduction of toxic nitric oxide NO for its detoxification. They are also involved in life cycle of pathogenic bacteria in their host.

I determined both monomeric and dimeric structures of *Neisseria meningitidis* qNOR, and also analyzed its reaction with NO in the absence and presence of inhibitors. These data provided bases for design and construct of anti-bacterial drugs.

Using *Pseudomonas aeruginosa* cNOR as a target enzyme, I followed the enzymatic reaction with NO with time-resolved visible and IR spectroscopic, and cryo-reduction annealing ESR spectroscopic techniques. In these measurements, I proposed the molecular mechanism of NOR enzymatic reaction. The results are highly related to the molecular evolution of the respiratory enzyme.

研究分野：構造生命科学

キーワード：一酸化窒素還元酵素 一酸化窒素 脱窒 亜酸化窒素 抗菌ガス 呼吸酵素の分子進化 抗菌剤開発

### 1. 研究開始当初の背景

一酸化窒素還元酵素 (NOR) は、ヘム鉄と非ヘム鉄の複核錯体を活性中心に有する膜結合性の膜タンパク質であり、微生物の嫌気呼吸の一種である脱窒 (denitrification) の鍵となる酵素である。脱窒は、硝酸塩  $\text{NO}_3^-$  あるいは亜硝酸塩  $\text{NO}_2^-$  を段階的に還元して、最終生成物である窒素  $\text{N}_2$  を大気中に放出する生理反応であり ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ )、地球上の窒素サイクルの中で非常に重要な反応である。脱窒過程で中間生成物として産生される一酸化窒素  $\text{NO}$  は、細胞毒性が高いために脱窒菌の細胞内では拡散されることなく速やかに無毒化されなければならない。その重要なステップを触媒するのが  $\text{NO}$  無毒化酵素である NOR である ( $2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ )。NOR には電子供与体の種類により、3種類の酵素が知られており、その中で我々は緑膿菌の cNOR と好熱菌の qNOR の分子構造を決定していた (ただし、qNOR は Fe が Zn に置換された不活性型の構造であった) <sup>1,2</sup>。加えて、我々は  $\text{NO}$  の産生酵素である亜酸化窒素還元酵素と  $\text{NO}$  消去酵素 NOR が細胞内で複合体を形成し、菌体内には産生された  $\text{NO}$  が NOR により速やかに消去される仕組みがあることを報告している <sup>3,4</sup>。

嫌気呼吸酵素である NOR は、好気呼吸酵素であるチトクロム酸化酵素 (CcoO) の分子進化上の祖先型酵素と考えられている。また、qNOR は、一部の病原菌 (髄膜炎など) がバイオフィルムを形成し、その中で嫌気呼吸に必須の酵素である。同時に、病原菌に感染された宿主が産生する抗菌ガスである  $\text{NO}$  を無毒化する上で重要な役割を果たしている。すなわち qNOR は抗菌薬のターゲットとなっている。さらに、NOR の酵素反応生成物である亜酸化窒素  $\text{N}_2\text{O}$  は、 $\text{CO}_2$  の約 310 倍の温室効果を持つ気体であり、なおかつオゾン層破壊物質でもある。以上のように、NOR の構造と機能の理解は、化学、生化学、蛋白質・酵素科学の観点のみならず、基礎生物学、医薬学、環境化学の観点からも非常に重要な知見となりうる。

### 2. 研究の目的

(1) 活性型構造が未だ得られていない髄膜炎菌の qNOR の構造を低温電子顕微鏡で決定する。qNOR はキノールを電子供与体とするが、キノール類縁体や構造類似体による阻害活性、阻害剤結合型の構造を得ることにより、電子供与体から複核鉄の活性中心への電子移動機構を議論する。

(2) 緑膿菌 cNOR (構造既知) を材料として、詳細な酵素反応機構を、特に複核鉄中心への  $\text{NO}$  の配位、Fe-NO 配位の電子状態の詳細に着目して決定する。

### 3. 研究の方法

分子構造の情報は、SPring-8 を使用した X 線結晶構造解析と低温電子顕微鏡法 (クライオ EM 法) を用いて取得した。反応機構の研究では、酵素反応中に現れる短寿命 (数  $\mu$  秒 ~ 数ミリ秒) 反応中間体の電子状態ならびに Fe-NO 配位構造の解析には、caged NO (図 1 : 紫外光照射により  $\text{NO}$  を放出する化合物) を用いた時分割可視ならびに赤外分光装置と ESR を用いた手法開発をおこなった。

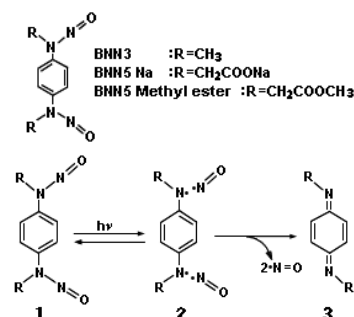


図 1. caged NO と  $\text{NO}$  の放出

### 4. 研究成果

(1) 髄膜炎菌 qNOR の構造機能解析

① 大腸菌を宿主として発現させた qNOR は単量体と二量体の混合状態で精製された。それを Size Exclusion Chromatography で分離し、鉄の含有量をチェックした後にそれぞれの酵素活性を測定した。単量体 ( $720 \mu\text{M NO/s}^{-1}/\mu\text{M qNOR}$ ) は二量体 ( $1320 \mu\text{M NO/s}^{-1}/\mu\text{M qNOR}$ ) よりも活性が低かった。単量体 (MW: 87kDa) と二量体の分子構造をクライオ EM 法で明らかにした (図 2)。それぞれの分解能は  $2.75\text{\AA}$  (単量体) と  $2.85\text{\AA}$  (二量体) であり、小さなタンパク質分子の分解能としては非常に高いものであった。両者の構造比較から、ヘリックス 2 (TM2) の構造に大きな差異が見られた。このヘリックスは、二量体の相互作用部位であると同時に、サイトゾール側から酵素活性部位につながる水分子のネット

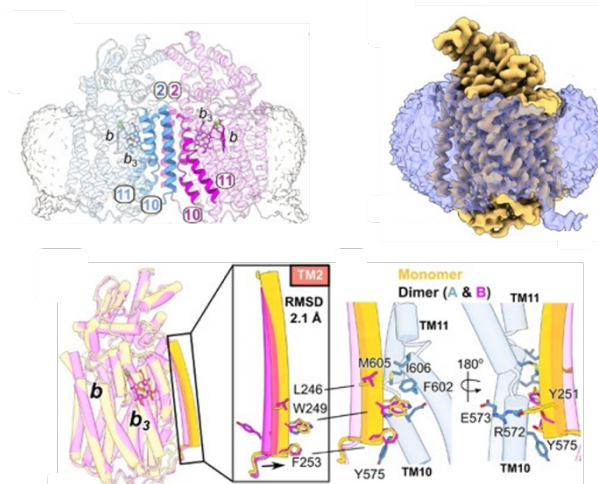


図 2. 髄膜炎菌 qNOR の (上左) 二量体、(上右) 単量体の電顕構造。(下) 二量体プロトマーと単量体の構造比較

ワークの形成に大きく関与している。このネットワークは酵素反応で使用されるプロトン（触媒プロトン）の輸送経路と考えられることから、TM2 の構造の差異が酵素活性の有無に大きく関与していると結論した。

ちなみに cNOR では、qNOR の水分子ネットワークに対応する部位は疎水性のアミノ酸残基が存在し、触媒プロトンの輸送は不可能であった。cNOR の触媒プロトンはペリプラズム側から供給されると提案されており、この相違が、cNOR は単量体が活性型であることに関係していると考えている。

② NOR と呼吸酵素の分子進化と関係が深い CcO には、酸素分子の還元反応に必要なプロトンの供給経路と、プロトンポンプ用のプロトン移動経路が考えられている。NOR はプロトンポンプ機能を持たないが、qNOR の水分子ネットワークは CcO のプロトン供給経路と一致し、cNOR のプロトン供給経路は CcO のプロトンポンプのプロトン移動経路と一致している。以上のことから、プロトン移動に関しては、cNOR と qNOR の構造上の特徴の融合が、好気呼吸酵素への分子進化の足がかりになったと提案した<sup>5,6</sup>。

③ qNOR の酵素反応を解析した（使用した電子供与体：Ubiquinole-1、Phenazine Methosulfate）後に、阻害剤（キノール類縁体：2-Heptyl-4-hydroxyquinoline n-oxide (HQNO)）と反応の詳細を解析した（表 1）。同時に、これらの阻害剤結合型の構造解析をおこない、阻害剤結合部位周辺の構造を明らかにした。全体構造は、阻害剤の有無で大きな差異はなかったが、阻害剤の結合には His303、Glu307、Asp728 のアミノ酸側鎖が関与していることが明らかになった（図 3）。これらのアミノ酸に変異を導入した結果、酵素活性が大きく減少したことから、qNOR への電子供与体の結合にこれらアミノ酸が重要な働きをしていることが明らかになった。以上の基礎研究は、抗菌薬開発の共同研究（国立循環器病研究センター）の基礎となった<sup>7</sup>。

表 1. 髄膜炎菌 qNOR の酵素反応解析

電子供与体	Vmax/ s-1	Km/ $\mu$ M	Inhibitor (HQNO)	
			Ki/ $\mu$ M	
Ubiquinol-1	94	3.8	22	non-competitive
Phenazin Methosulfate	97	16	1	non-competitive

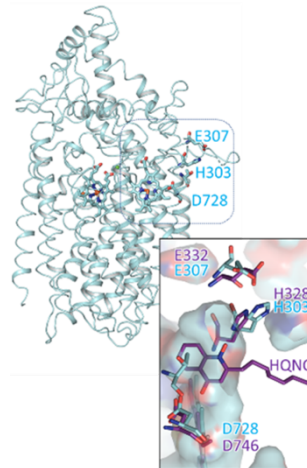


図 3. (シアン) 髄膜炎菌、(紫) 好熱菌の qNOR への阻害剤 (HQNO) の結合

## (2) cNOR の酵素反応機構解析

① 嫌気条件下で cNOR を還元した後に溶液中に caged NO を混入し分光用の測定試料とした。紫外光のパルス照射 (caged NO から NO の放出) をトリガーとして、酵素反応を開始し、その後の可視スペクトルと赤外スペクトルの時間変化を  $\mu$  秒からミリ秒の時間範囲で測定した。caged NO 濃度の変化させた可視スペクトルの経時変化から、cNOR と NO の反応は三段階の反応であり、第一反応と第三反応の素反応速度には NO 濃度依存性があり、第二反応は非依存的であった。以上の結果から、2つの反応中間体を含む三段階の逐次反応機構を提案した<sup>8,9</sup>。

② 2つの反応中間体の配位構造、電子状態を明らかにする目的で、①と同じ反応を時分割赤外分光法で追跡した結果、10 $\mu$  秒に（第一段階の反応で）1683 $\text{cm}^{-1}$  に鉄に結合した N-O 伸縮振動 ( $\nu_{\text{N-O}}$ ) が観測された（図 4）。しかし、第二反応中間体の N-O 伸縮振動は観測できなかった。

③ 1683 $\text{cm}^{-1}$  に観測された第一反応中間体の N-O 伸縮振動 ( $\nu_{\text{N-O}}$ ) が、ヘム鉄か非ヘム鉄のどちらに結合した NO に由来するのかを決定するために、ESR スペクトルを測定した。この測定のために、Cryophotolysis-Annealing ESR 法を開発した。すなわち、1) 還元型 NOR と cagedNO の混合溶液に 77K で紫外光を 1 時間照射、2) 温度を 160K に

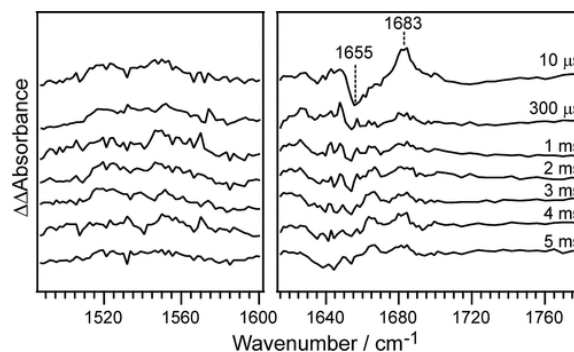


図 4. cNOR と NO の酵素反応中に観測された鉄に結合した NO の伸縮振動 ( $\nu_{\text{N-O}}$ )。15NO と 14NO を使用した測定の差スペクトルで示した

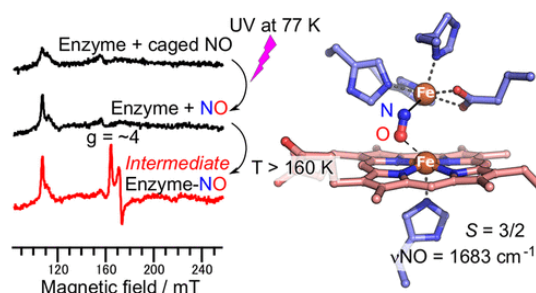


図 5. cNOR と NO の酵素反応の第一反応中間体の ESR スペクトルとその結成中心の配位構造

昇温し 30 分放置、3) 77K で ESR スペクトルを測定、2)と 3)を繰り返す (ただし昇温を 170K、180K まで)。その結果、非ヘム鉄に NO が結合した Fe-NO に由来する  $g=4.129, 3.935$  にシグナルが観測された (図 5) <sup>10</sup>。

以上の測定結果を統合して、NOR による NO 還元反応の分子機構を提案した (図 6)。

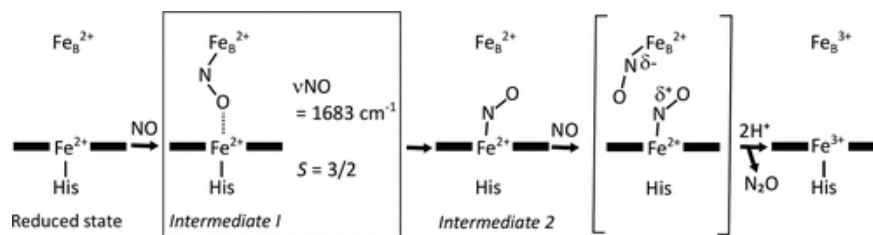


図 6. 本研究から提案した NOR と NO の酵素反応の分子機構

NOR の研究は、呼吸酵素の分子進化の観点から 30 年程行われてきたが、本研究により飛躍的に進んだ。その一番の理由は、申請者らが NOR の分子構造を世界に先駆けて報告したことと、その情報を基盤に酵素反応の詳細を最先端の手法で測定解析したことによる。本研究結果は、最初に示した「背景」の通り、様々な科学分野へのインパクトは大きい。

#### 文献

1. *Science* **330**, 1666-1670 (2010) doi:10.1126/science.1195591
2. *Nat. Strl. Mol. Biol.* **19**, 238-245 (2012) doi: 10.1038/nsmb.2213
3. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**, 9888-9893 (2017) doi: 10.1073/pnas.1621301114
4. *Biochim. Biophys. Acta Bioenergetics* **1859**, 333-341 (2018) DOI: 10.1016/j.bbabi.2018.02.009
5. *Sci. Adv.* Vol. 5, no. 8, eaax1803 (2019) DOI: 10.1126/sciadv.aax1803
6. *IUCr J.* **7**, 404-415 (2020) DOI: 10.1107/S2052252520003656
7. *Nat. Commun.* **13**, 7591 (2022) DOI: 10.1038/s41467-022-34771-y
8. *J. Biol. Chem.* **279**, 55247-55254 (2004)
9. *Bull. Chem. Soc. Japan* **93**, 825-833 (2020) doi:10.1246/bcsj.20200038
10. *J. Phys. Chem. B* **127**, 846-854 (2023) DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c05852

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 13件）

1. 著者名 T. Nomura, T. Kimura, Y. Kanematsu, K. Yamashita, K. Hirata, G. Ueno, H. Murakami, T. Hisano, R. Yamagiwa, H. Takeda, C. Gopalasingam, Y. Kino, R. Kousaka, S. Yanagisawa, O. Shoji, T. Kumasaka, Y. Takano, H. Ago, M. Yamamoto, H. Sugimoto, T. Tosha, M. Kubo, Y. Shiro	4. 巻 118
2. 論文標題 Coordination and Electronic Structures of Short-Lived Intermediate in NO Reduction by Cytochrome P450 NO Reductase as Characterized by Time-Resolved IR Spectroscopy and XFEL Crystallography	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci. USA	6. 最初と最後の頁 e2101481118
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2101481118	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 H. Kwon, J. Basran, C. Pathak, M. Hussain, S. Freeman, A. Fielding, A. Bailey, N. Stefanou, H. Sparkes, T. Tosha, K. Yamashita, K. Hirata, H. Murakami, G. Ueno, H. Ago, K. Tono, M. Yamamoto, H. Sawai, Y. Shiro, H. Sugimoto, E. Raven, P. Moody	4. 巻 60
2. 論文標題 XFEL Crystal Structures of Peroxidase Compound II	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angew. Chem. Int. Ed. Engl.	6. 最初と最後の頁 14578-14585
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/anie.202103010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 T. Yamawaki, M. Mizuno, H. Ishikawa, K. Takemura, A. Kitao, H. Nakamura, Y. Shiro, Y. Mizutani	4. 巻 125
2. 論文標題 Regulatory Switching by Concerted Motions in the Microsecond Time Range of the Oxygen Sensor Protein FixL	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem.	6. 最初と最後の頁 6847-6856
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.jpcc.1c01885	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 K. Mukai, H. Sugimoto, K. Kamiya, R. Suzuki, T. Matsuura, T. Hishiki, Y. Shiro, H. Shimada, N. Kagawa	4. 巻 3
2. 論文標題 Spatially Restricted Active Site of Cortisol-Synthesizing Enzyme Executes $\alpha$ -Hydroxylation and Hinders Aldosterone Synthesis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Curr. Res. Struct. Biol.	6. 最初と最後の頁 192-205
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.crstbi.2021.08.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -



1. 著者名 M. A. M. Jamali, C. C. Gopalasingam, R. M. Johnson, T. Tosha, K. Muramoto, S. P. Muench, S. V. Antonyuk, Y. Shiro, S. S. Hasnain	4. 巻 7
2. 論文標題 Active Form of Quinol-dependent Nitric Oxide Reductases (qNOR) from Neisseria meningitidis is a Dimer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IUCr J.	6. 最初と最後の頁 404-415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2052252520003656	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 H. Takeda, T. Kimura, T. Nomura, A. Yokota, A. Matsubayashi, S. Ishii, Y. Shiro, M. Kubo, T. Tosha	4. 巻 93
2. 論文標題 Timing of NO binding and Protonation in Catalytic Reaction of Bacterial Nitric Oxide Reductase Proved by Time-Resolved Spectroscopic System	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Japan	6. 最初と最後の頁 825-833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20200038	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 M. Kato, Y. Masuda, N. Yoshida, T. Tosha, Y. Shiro, I. Yagi	4. 巻 373
2. 論文標題 Impact of Membrane Protein-Lipid Interactions on Formation of Bilayer Lipid Membranes on SAM-modified Gold Electrode	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Electrochim. Acta	6. 最初と最後の頁 137888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.electacta.2021.137888	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 城 宜嗣	4. 巻 75
2. 論文標題 分子構造を基盤にしたヘムタンパク質・ヘム酵素の機能解明	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BJSCC	6. 最初と最後の頁 51-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 T. Tosha, R. Yamagiwa, H. Sawai, Y. Shiro	4. 巻 50
2. 論文標題 NO Dynamics in Bacterial Denitrification System	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letter	6. 最初と最後の頁 280-288
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.200629	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishinaga Megumi, Sugimoto Hiroshi, Nishitani Yudai, Nagai Seina, Nagatoishi Satoru, Muraki Norifumi, Tosha Takehiko, Tsumoto Kouhei, Aono Shigetoshi, Shiro Yoshitsugu, Sawai Hitomi	4. 巻 4
2. 論文標題 Heme controls the structural rearrangement of its sensor protein mediating the hemolytic bacterial survival	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01987-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 S. Yanagisawa, K. Kayama, M. Hara, H. Sugimoto, Y. Shiro, T. Ogura	4. 巻 117
2. 論文標題 UV-Raman Characterization of a Substrate Tryptophan Bound to Human Indoleamine 2,3-Dioxygenase 1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biophys. J.	6. 最初と最後の頁 706-716
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bpj.2019.07.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 C. Gopalasingam, G. Chiduzza, T. Tosha, M. Yamamoto, Y. Shiro, S. V. Antonyuk, S. Muench, S. S. Hasnain	4. 巻 5
2. 論文標題 Structure of Quinol-dependent Nitric Oxide Reductase from Alcaligenes xylosoxidans by Cryo-electron microscopy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci. Adv.	6. 最初と最後の頁 eaax1803
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aax1803	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 K. Tamura, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Sugita	4. 巻 123
2. 論文標題 Chemomechanical Coupling in the Transport Cycle of a Type II ABC Transporter	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. B	6. 最初と最後の頁 7270-7281
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.9b04356	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishida Yuya, et al., Shiro Yoshitsugu, et al., Shintani Yasunori	4. 巻 13
2. 論文標題 Identifying antibiotics based on structural differences in the conserved allostery from mitochondrial heme-copper oxidases	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-34771-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Takeda Hanae, Shimba Kanji, Horitani Masaki, Kimura Tetsunari, Nomura Takashi, Kubo Minoru, Shiro Yoshitsugu, Tosha Takehiko	4. 巻 127
2. 論文標題 Trapping of a Mononitrosyl Nonheme Intermediate of Nitric Oxide Reductase by Cryo-Photolysis of Caged Nitric Oxide	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry B	6. 最初と最後の頁 846 ~ 854
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.2c05852	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 T. Tosha, H. Takeda, Y. Shiro and M. Kubo
2. 発表標題 Time-resolved Techniques Provide Mechanism for Nitric Oxide Reduction by Nitric Oxide Reductase
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 (Pacifichem 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年



1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 分子構造を基盤にした鉄結合タンパク質の機能解明 生命金属科学への展開をめざして
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 富舎武彦
2. 発表標題 光解離性ケージド基質を利用した一酸化窒素還元酵素の反応機構の解明
3. 学会等名 第94回日本生化学大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 鉄の生体内動態の分子科学
3. 学会等名 第2回レドックスR&D戦略委員会 春のシンポジウム 最先端技術が切り拓くレドックスバイオロジー (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 C. Gopalasingam
2. 発表標題 Probing Functional and Structural Differences of Quinol-dependent Nitric Oxide Reductases' (qNOR) within a Lipidic Nanodisc Environment
3. 学会等名 Protein Science Society of Japan Annual Meeting (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 『生命金属科学』のめざすところ
3. 学会等名 CSJ化学フェスタ(招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 分子構造を基盤にした鉄結合タンパク質の機能解明: Functional Studies of Iron-Related Proteins on Molecular Basis
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shiro, Y.
2. 発表標題 Dynamics of Nitric Oxide in Bacterial Cellular Systems: NO Generation and Decomposition
3. 学会等名 Japan-BIOCEV Symposium: Macromolecules; Structure, Function and Beyond(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shiro Y.
2. 発表標題 Dynamics of Nitric Oxide in Cellular Systems: NO Generation and Decomposition
3. 学会等名 KTJ Bioinorganic Chemistry Symposium 2019 (KTJ-BICS 2019)(招待講演)(国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 分子構造を基盤にしたヘムタンパク質の機能解明～生命金属科学への展開をめざして～
3. 学会等名 錯体化学会第69回討論会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 城 宜嗣
2. 発表標題 ヘム蛋白質の機能を司る構造・ダイナミクスとエネルギー流：実験と理論
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 城 宜嗣・津本浩平	4. 発行年 2021年
2. 出版社 NTS	5. 総ページ数 511
3. 書名 生命金属ダイナミクス 生体内における金属の挙動と制御	

1. 著者名 城 宜嗣、青野 重利、齋藤 正男	4. 発行年 2022年
2. 出版社 エヌ・ティー・エス	5. 総ページ数 472
3. 書名 ヘムタンパク質の科学	

〔産業財産権〕

〔その他〕

兵庫県立大学大学院理学研究科細胞制御学 講座  
<https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/regulation/index-j.html>  
 兵庫県立大学大学院理学研究科細胞膜超分子複合体機能解析学講座  
<http://www2.riken.jp/biometal/index.htm>  
 兵庫県立大学大学院理学研究科細胞制御 講座  
<https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/regulation/index-j.html>  
 兵庫県立大学大学院理学研究科細胞膜超分子複合体機能解析学講座  
<http://www2.riken.jp/biometal/index.htm>  
 兵庫県立大大学院生命理学研究科細胞制御 講座  
<https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/life/regulation/index-j.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	村本 和優	兵庫県立大学・理学研究科・准教授	
	(Muramoto Kazumasa)  (50305679)	  (24506)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
英国	University of Liverpool	University of Bristol	University of Leicester	
英国	University of Liverpool	University of Leeds		
英国	University of Liverpool	University of Leeds		