2版

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　２年　７月　９日現在

機関番号：１３３０１
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2017～2019
課題番号：１７Ｋ０７３０４
研究課題名（和文）　酵素基質複合体の構造ダイナミクス解析に基づく反応方向制御機構の解明

研究課題名（英文）Investigation into the regulation of the directionality of the reversible redox reaction induced by a conformational dynamics of the enzyme-substrate complex

研究代表者

瀬尾　悌介（SEO, DAISUKE）

金沢大学・物質化学系・助教

研究者番号：１０３３９６１６

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,400,000円

研究成果の概要（和文）：Ferredoxin-NAD(P)+酸化還元酵素(FNR)の反応方向制御の詳細を，異なる方向性を示すFNRを用いた速度論的・構造学的解析に基づく比較研究により解明することを目指した．
FNRのNADP+/Hとの反応では，方向性の異なるFNR間で還元型FADのコンホメーションとNADP+還元反応の律速段階が異なることから，還元型FADとアミノ酸残基の相互作用が方向制御に重要であると推察された．またC末端部変異体の反応の解析から，C末端部が他のドメインとの相互作用を通して中間体構造を安定化し，NADP+/HとFNR間のヒドリド転移速度や酸化還元平衡を最適化して方向制御に寄与することが判明した．

研究成果の学術的意義や社会的意義
相同性は高いが生理的に要求される反応方向が異なるFNRを用いた比較研究により，これまで酸化還元平衡に基づき説明されていたFNRの触媒反応の方向性が，実際には基質結合と酸化還元状態の変化に伴う構造変化による制御を受けており，構造的にも正逆方向で異なる過程をたどることが確認された．この結果は，FAD/NAD(P)H依存型酵素の構造－機能相関に基づく反応機構の理解の礎を築くと共に，フラボ酵素の反応方向制御における還元型FADのコンホメーションの制御の重要性を新たに提示するものである．

研究成果の概要（英文）：The redox reaction catalyzed by FNR is thermodynamically reversible. But under the physiological conditions the direction is optimized toward either NAD(P)+ reduction or NAD(P)H oxidation. This research aims to reveal the regulative mechanism of the directionality of the reversible redox reaction in the context of structure-function relation based on kinetic and structure analyses approaches. Kinetic analyses of the reactions between bacterial FNRs and NADP+/H revealed that the difference in the conformation of the reduced FAD altered the rate limiting step of the NADP+ reduction reaction, indicating that the residues interacting with reduced FAD play an important roles in the regulation of the directionality. The mutation on the residues in the C-terminal region affected the stabilization of the CT complex, leading an effective hydride transfer and optimization of the redox equilibrium between FNR and NADP+/H, thus contributing to the regulation of the directionality.

研究分野：酵素学

キーワード：フラボ酵素　フェレドキシン　酸化還元反応　酵素反応速度論　フラビン　NADPH　NADH

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

Ferredoxin-NAD(P)$^+$ 酸化還元酵素(FNR)は, 次式に示すNAD(P)$^+$/H と ferredoxin(Fd)間の可逆的な酸化還元反応を触媒する

$$NAD(P)H + 2Fd_{ox} \Leftrightarrow NAD(P)^+ + 2Fd_{red} + H^+.$$

FNRの触媒反応の進行方向は、細胞内NAD(P)$^+$/H 比と Fd 及び Fd の関与する系との酸化還元平衡により決定されると一般に考えられている．すなわち，NAD(P)$^+$/NAD(P)H 比が小さく Fd の酸化還元電位が高い従属栄養生物ではFd還元方向へ, NAD(P)$^+$/NAD(P)H 比が大きく Fd の酸化還元電位が低い光合成系ではNAD(P)$^+$還元方向へ反応は進むとされる．しかし細胞内の酸化還元状態は, 栄養条件や光などの環境要因によって変動するものであり, FNRを介した還元力がDNAや脂肪酸の合成, 炭酸同化や活性酸素消去など細胞の恒常性に必須であることを考慮すると, 逆反応の抑制, すなわち反応方向制御が重要になる. 申請者らの光合成細菌FNRと枯草菌FNRの比較研究の結果は, Fd の酸化還元電位の如何に関わらず, 基質結合により正方向と逆方向の反応速度の比が変化し, 生理的要求に応じてFNRの触媒する反応に方向性が生じることを示唆していた. また両FNRを用いたヒドロゲナーゼ還元による in vivoでの水素生産の報告も, 方向制御の存在を支持する (Velt A ら, Microb. Biotec, (2008)1: 382-394). 前定常状態の反応の解析からNAD(P)$^+$/H結合に伴うコンホメーション変化で生じる中間体の構造がカギを握ることが示唆されたが, 基質結合に伴う酵素基質複合体の構造や, 中間体形成に伴う酸化還元特性の変化の詳細は未だ明らかにされておらず, 方向制御を実現する反応機構の詳細は明らかにされていない.

２．研究の目的

FNR の触媒する可逆反応において生理的方向へ反応方向を制御する方向制御機構の詳細を構造－機能相関の観点から明らかにすることを目指し，野生型 FNR 及び FNR の構造情報に基づき作成した変異体を用いて，酵素基質複合体形成と中間体間の酸化還元平衡・速度の速度論的解析, 及びFNRと FNR-基質複合体の構造情報の取得を実施し，反応方向制御を含む FNR の触媒反応機構の全体像を明らかにする.

３．研究の方法

(1) 野生型及び変異体FNR用いた酵素-基質間の酸化還元反応の速度論的解析

FNRはNAD(P)$^+$/H とのヒドリド転移と，Fd との電子移動の 2 つの異なる様式の反応を触媒する. 各々の基質との反応において, 要求される供与原子－受容原子間距離や基質の分子サイズを考慮すると, FNRは各々の基質に対応する異なるコンホメーションをとる必要がある. NAD(P)$^+$/H とのヒドリド転移反応では, NAD(P)$^+$/Hのニコチンアミド環と FAD のイソアロキサジン環のスタックが必要だが，枯草菌FNRと緑色硫黄細菌FNRの結晶構造では，イソアロキサジン環re面にスタックする芳香族残基を含むC末端部がNAD(P)$^+$/H結合ドメインのアクセスの妨げとなる. 一方で C 末端部を削除した枯草菌 FNR では，NADP$^+$/H との反応速度の低下は観測されなかったが, Fd還元活性が大幅に低下したことから，C末端部はFdとの反応に必要である．この先行研究の結果を踏まえて，本研究計画ではC末端部の機能解明に重点を置き，下記の研究を実施した.

①これまで研究対象としてきた枯草菌FNR(*Bs*FNR)及び緑色硫黄細菌FNR(*Ct*FNR)とはC末端部の相同性の低い紅色非硫黄細菌 *Rhodopseudomonas palustris* 由来 FNR(*Rp*FNR)の発現・精製とNADP$^+$/Hとの反応を測定し，C末端部の違いによるNADP$^+$/Hとの反応様式の違いを確認した.

②*Ct*FNR の C 末端部を削除した変異体を作成し,削除が NADP$^+$/H との反応にどのような影響を与えるか,基質濃度依存性をストップトフロー法を用いた前定常状態で測定し,複合体形成と中間体の遷移における素反応段階の速度定数を解析して,変異による影響の出る素反応を確定した.

③3種のFNRの結晶構造中で保存されているFADイソアロキサジン環re面にスタックする芳香族残基の機能を明らかにするために,*Rp*FNRのre面のTyr残基を非芳香族残基であるSer，*Bs*FNRのHis，*Ct*FNRのPheに置換した変異体を作成し，NADP$^+$/Hとの反応に及ぼす影響を解析した.

④*Bs*FNRと*Ct*FNRでは，ヒドリド転移反応の正逆方向の反応速度比が大きく異なる．両 FNRのC末端部を相互置換したキメラFNRを作成し，前定常状態でのNADP$^+$/Hとの反応を測定し，C末端部の方向制御への寄与を検証した.

⑤FNRとFd間の反応に関して，枯草菌Fdの発現・精製と同細菌FNRとの反応の測定には成功しているが，緑色硫黄細菌の系では，酸素存在下で緑色硫黄細菌 Fd(*Ct*Fd)の鉄硫黄クラスターが不活化するため,インタクトなFdを用いた電子伝達活性の確認には至っていない.*Ct*FNRと*Ct*Fd間の電子伝達活性を確認するために，*Ct*Fdを発現・精製した後，鉄硫黄クラスターを再構成し，*Ct*FNRとの酸化還元反応の測定を実施した.

(2) FNR及びFNR-Fd複合体の構造解析

FNR の酵素基質複合体の構造は,基質結合部位や基質との相互作用に関与するアミノ酸残基に関する情報を与えるため,反応方向制御機構の解明に重要な知見を与えうる．これまでに*Bs*FNR及び *Ct*FNRの, NADP$^+$との複合体及びFNR単独での結晶構造をそれぞれ得ている. 本研究では, *Rp*FNRの結晶構造解析，*Bs*FNRと*Ct*FNRの FNR-Fd 複合体の結晶化条件の探索，及び高磁場NMR による FNRの構造解析のための部分同位体ラベルした*Bs*FNRの発現・精製を実施した.

４．研究成果

(1) FNR の C 末端部への変異導入による反応速度及び酸化還元特性への影響

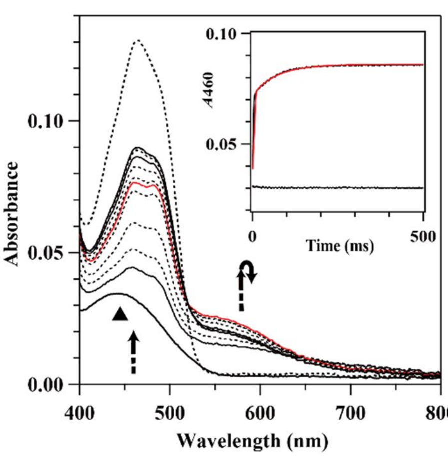
① 紅色非硫黄細菌 FNR と NADP$^+$/H 間の反応

*Rp*FNR と NADP$^+$/H 間の酸化還元反応の測定では，NADPH 酸化速度及び NADP$^+$還元速度共に速い成分(〜500 s^{-1})が観測され，NADP$^+$/H との酸化還元反応は速度論的に可逆であると結論された．この結果は，NADPH 酸化速度に比べて NADP$^+$還元速度が極めて遅い *Ct*FNR や，NADP$^+$還元方向への反応の進行が起こりにくい *Bs*FNR とは対照的であり，*Bs*FNR と *Ct*FNR の NADP$^+$/H との反応の解析で我々が用いた反応モデルの妥当性，及び NADP$^+$/H 濃度依存性の差に基づく速度成分の素反応への帰属の正当性を裏付ける結果となった．NADP$^+$/H 混合直後の過渡吸収スペクトルにおいて，電荷移動(CT)複合体形成に由来する吸収帯の強度と NADP$^+$還元速度の間に強い相関が見られたこと，また還元型 FNR の S_0-S_1 遷移に帰属される吸収帯（図１内▲）の強度の違いから，還元型 FNR の FAD のイソアロキサジン環のコンホメーションが *Rp*FNR と *Ct*FNR で大きく異なることが示唆され，還元型 FAD と周辺アミノ酸残基との相互作用が NADP$^+$還元方向の反応速度に大きく影響する，すなわち方向制御に寄与する可能性が示唆された．

②緑色硫黄細菌 FNR の C 末端部削除による NADP$^+$/H との反応への影響

*Ct*FNR の C 末端部をイソアロキサジン環 re 面にスタックする Phe 残基の前後で削除及び C 末端部全体を削除した 3 種の変異型 *Ct*FNR を作成し，NADP$^+$/H との酸化還元反応を前定常状態で測定した．re 面にスタックする Phe の削除は NADPH 酸化速度及び NADP$^+$還元速度を低下させなかったが，C 末端部全体の削除は，CT 複合体形成速度とヒドリド転移速度，及び平衡時の FNR と NADP$^+$/H 間の酸化還元平衡定数に大きく影響を与えたことから，C 末端部と FAD 結合ドメイン及び NADP$^+$結合ドメインとの相互作用が，CT 複合体を安定化して，ヒドリド転移速度の上昇と，NADP$^+$結合ドメインと FAD の相互作用による酸化還元平衡時の FNR の相対的電位の上昇を引き起こし，NADP$^+$還元方向への反応の進行が容易になるよう制御することが明らかになった．

図１ *Rp*FNR$_{red}$ と NADP$^+$ 混合後の過渡吸収スペクトル



③紅色非硫黄細菌 FNR の re 面 Tyr の置換

新たに結晶構造が解かれた *Rp*FNR で確認された FAD のイソアロキサジン環 re 面にスタックする Tyr328 を置換した変異体 Y328F，Y328H，Y328S を作成し，NADP$^+$/H との酸化還元反応を解析した．変異導入により NADP$^+$と NADPH に対する K_d 値と K_m 値は WT に比べ大きく減少し，ジアホラーゼ活性における k_{cat} 値も Phe 及び Ser 変異体では有意に減少した(図 2)．

図 2 WT 及び変異体 *Rp*FNR のジアホラーゼ活性

	WT	Y328F	Y328H	Y328S
K_M(μM)	59	5.7	21	3.6
k_{cat}(s^{-1})	323	186	368	207
k_{cat}/K_M (10^{6}s^{-1}M^{-1})	5.5	32.6	17.5	58

ストップトフロー法を用いた変異体の NADPH 酸化反応及び NADP$^+$還元反応の測定では，いずれの変異体においても速やかな CT 複合体形成に続いて起こる FAD 還元過程において，WT と同様に 2 つの速度成分が観測された．速い成分はいずれの変異体も WT とほぼ同じ約 500 s^{-1}の速度定数を与えた．Phe 及び Ser 変異体では，遅い成分の速度が WT と比べて大幅に低下していた．平衡時の酸化型と還元型の *Rp*FNR の割合は，WT と変異体で大きな差はなかった．速度論解析の結果から，Tyr の存在がニコチンアミド環のスタックを阻害して CT 複合体を不安定化し，見かけの NADP$^+$/H に対する親和性を低下させる代わりに，NADP$^+$/H の解離を促進してオーバーオールでのターンオーバー速度を上昇させていると結論された．構造的に大きく異なる植物型 FNR の re 面の Tyr も同様な機能を有することが報告されている．今後は Fd 存在下での NADP$^+$/H との酸化還元反応の解析を行い，同 Tyr 残基の機能の詳細を詰める．

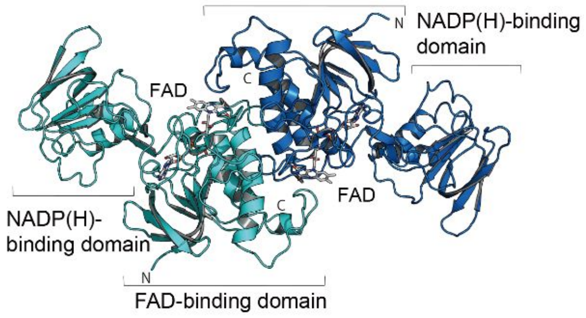
④枯草菌 FNR と緑色硫黄細菌 FNR 間の C 末端部の相互置換

*Bs*FNR と *Ct*FNR 間の C 末端部を相互に置換した 2 種のキメラ FNR 遺伝子発現ベクターを作製し，野生型 FNR に準じた方法で発現・精製を行い精製した．*Ct*FNR の C 末端部を *Bs*FNR の C 末端部に置換した変異体の発現量が大幅に低下していたため，*Bs*FNR の C 末端部を *Ct*FNR の C 末端部に置換した変異体の測定のみ実施した．同変異体の定常状態下での Fd 還元活性は，野生型 *Bs*FNR の 1/10 以下に低下し，C 末端部が Fd との反応に寄与する過去の研究結果を支持した．前定常状態下での酸化型 FNR と NADPH の反応では，野生型 *Bs*FNR と同様に速やかな CT 複合体形成と H$^-$転移反応が観測された(〜500 s^{-1})．一方，還元型 FNR と NADP$^+$の反応では，CT 複合体形成に伴う吸収帯が野生型とは異なり観測されず，見かけの FNR 酸化速度も WT に比べて若干低下していた(〜2 s^{-1})．この結果は，酸化型 FNR と NADPH との反応時と異なり，還元型 FNR では NADPH 結合ドメインと C 末端部の相互作用が，CT 複合体の安定化，もしくは FAD イソアロキサジン環のコンホ

メーション変化に大きく寄与していることを示唆する．今後，C 末端部の特定のアミノ酸残基への変異導入を実施し，ドメイン間の相互作用の構造的・速度論的詳細を明らか異にする．

⑤緑色硫黄細菌 FNR と Fd 間の酸化還元反応
　大腸菌で発現させた *Ct*Fd は，細菌型 Fd に特徴的な 280 nm と 390 nm に吸収極大を持つ吸収スペクトルを与えたが，EPR 測定により[3Fe-4S]型クラスターを結合していることが確認された．グアニジン塩酸で変性後，嫌気条件下で鉄硫黄クラスターの再構成を行い，[4Fe-4S]型クラスターが再構成されたことを EPR 測定により確認した．再構成後の *Ct*Fd 存在下の酸化型 *Ct*FNR による NADPH 酸化反応は，*Ct*Fd 非存在下と同じ律速段階と反応速度を与えた．酸化型 *Ct*Fd 存在下の還元型 *Ct*FNR による $NADP^+$還元反応は，*Ct*Fd 非存在下と同様に，CT 複合体形成が律速段階であり，反応速度にも大きな差は見られなかった．還元型 *Ct*Fd による *Ct*FNR 還元反応の過渡吸収スペクトルは，*Ct*Fd が 2 電子供与体として機能することを示唆し，還元速度は約 60 s^{-1}で，$NADP^+$還元速度(約 5 s^{-1})に比べ十分速かった．還元型 *Ct*Fd と酸化型 *Ct*FNR 混合後に $NADP^+$と反応させたときの $NADP^+$還元速度は，*Ct*Fd 非存在下の約 10 倍に上昇した．還元型 *Ct*Fd による *Ct*FNR 還元が *Ct*Fd 非存在下での還元時と異なる構造を誘導し，$NADP^+$還元速度に影響したと考えられる．FNR 及び同族酵素において，2 基質間の正の相互作用及び 1 分子の Fd との 2 電子の授受はこれまで報告されておらず，FAD の反応機構の多様性とこれを実現する構造的要因の解明において，*Ct*FNR と *Bs*FNR・*Rp*FNR の比較研究が多大な貢献をすることが期待される．

(2)酵素基質複合体の構造解析
①紅色非硫黄細菌 FNR の結晶構造
連携研究者との共同研究により野生型 *Rp*FNR 単独の X 線結晶構造解析に成功した．得られた構造は，*Bs*FNR や *Ct*FNR 同様，2 つのヌクレオチド結合ドメインからなるプロトマーが会合したホモダイマーで構成されていることを示し，*Bs*FNR-$NADP^+$複合体の結晶構造との比較から $NADP^+$結合に伴い Arg190 周辺残基の主鎖が大きく動くことが判明した．また FAD のイソアロキサジン環と C 末端部のアミノ酸残基間の水素結合数や相対的な位置も *Bs*FNR や *Ct*FNR と異なっており，3 種の FNR の構造と速度論解析の結果の比較による構造-機能相関に基づく反応機構研究を進めていくことが可能になった．

図3 *Rp*FNRの構造


②FNR-基質複合体の結晶化
FNR と電子受容体/電子供与体蛋白質との複合体の結晶構造解析のために，*Ct*FNR と *Ct*Fd，*Bs*FNR と *Bs*Fd の組み合わせに加えて，*Bs*FNR と溶解度の近い枯草菌由来の 2 つの flavodoxin を発現・精製し，*Bs*FNR との複合体結晶化条件を検討したが，いずれの組合せにおいても，複合体の結晶化条件は得られなかった．引き続き共結晶化の条件検討を進めていく．

③高磁場 NMR 分光法による FNR の構造情報の取得に向けた部分同位体ラベル試料の作製
　C 末端部を部分同位体でラベルした *Bs*FNR を作成するために，インテイン融合蛋白質を用いた蛋白質編集法による部分同位体ラベル試料の作成を進めた．約 300 残基からなる FNR の主要な部分を含む N 末端側の蛋白質は，大腸菌を宿主とした発現系において FAD が結合したホロ状態で CBD 融合蛋白質として発現し，野生型 FNR に準じた方法で精製することができた．約 20 残基長の C 末端側のペプチドは，大腸菌宿主内でインテイン融合蛋白質として発現していることが SDS-PAGE で確認されたものの，発現状態もしくは精製法に問題があり，精製断片の取得には至至らなかった．C 末端部のペプチドの無細胞発現系による発現を検討し，部分ラベル標品の取得に向け研究を進めていく．

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計3件（うち査読付論文　3件／うち国際共著　0件／うちオープンアクセス　0件）

1．著者名 羽田野敦史，北島正治，瀬尾悌介，片岡祐介，川本達也，櫻井英博，井上和仁	4．巻 29
2．論文標題 極低温ESRによる金属タンパク質及び金属錯体の機能解析-光合成細菌Heliobacillus mobilisのフェレドキシンの性質	5．発行年 2018年
3．雑誌名 Science Journal of Kanagawa University	6．最初と最後の頁 93-96
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 Seo Daisuke、Asano Tomoya	4．巻 136
2．論文標題 C-terminal residues of ferredoxin-NAD(P)+ reductase from Chlorobaculum tepidum are responsible for reaction dynamics in the hydride transfer and redox equilibria with NADP+/NADPH	5．発行年 2017年
3．雑誌名 Photosynthesis Research	6．最初と最後の頁 275～290
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11120-017-0462-z	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 Seo Daisuke、Muraki Norifumi、Kurisu Genji	4．巻 1861
2．論文標題 Kinetic and structural insight into a role of the re-face Tyr328 residue of the homodimer type ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodopseudomonas palustris in the reaction with NADP+/NADPH	5．発行年 2020年
3．雑誌名 Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics	6．最初と最後の頁 148140～148140
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbabio.2019.148140	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 －

〔学会発表〕　計18件（うち招待講演　0件／うち国際学会　5件）

1．発表者名 瀬尾悌介，村木則文，栗栖源嗣
2．発表標題 Rhodopseudomonas palustris由来 ferredoxin NADP+ oxidoreductaseの結晶構造と酵素活性
3．学会等名 第60回日本植物生理学会年会
4．発表年 2019年

1．発表者名 Daisuke Seo, Issei Hayashi
2．発表標題 Role of the re-face Tyr residue stacked on the FAD prosthetic group in ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodopseudomonas palustris during catalysis with NADP+/H
3．学会等名 63th Annual Meeting of the Biophysical Society（国際学会）
4．発表年 2019年

1．発表者名 Daisuke Seo, Issei Hayashi
2．発表標題 Pre-steady state kinetic analysis of redox reactions with NADP+/H catalyzed by a ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodopseudomonas palustris
3．学会等名 第91回日本生化学会大会
4．発表年 2018年

1．発表者名 Daisuke Seo
2．発表標題 Kinetics of reversible NADP+/H reduction/oxidation reaction catalyzed by a ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodopseudomonas palustris
3．学会等名 第56回日本生物物理学会年会
4．発表年 2018年

１．発表者名 林壱星、瀬尾悌介
２．発表標題 枯草菌flavodoxinとferredoxin-NADP+酸化還元酵素間の酸化還元反応
３．学会等名 第9回日本光合成学会年会
４．発表年 2018年

１．発表者名 瀬尾悌介
２．発表標題 緑色硫黄細菌ferredoxin-NAD(P)+還元酵素　C末端部削除によるNADP+/H 酸化還元特性への影響
３．学会等名 第8回日本光合成学会年会
４．発表年 2017年

１．発表者名 Daisuke Seo, Masaharu Kitashima, Kazuhito Inoue, Hirofumi Komori
２．発表標題 Purification and characterization of ferredoxin-NADPH oxidoreductase paralogue YcgT in gram-positive bacterium Bacillus subtilis
３．学会等名 19th International Conference on Bacilli & Gram-Positive Bacteria（国際学会）
４．発表年 2017年

１．発表者名 Daisuke Seo
２．発表標題 Reversibility of the reactions catalyzed by ferredoxin-NAD(P)+ oxidoreductases from phototrophic and heterotrophic bacteria
３．学会等名 19th International Symposium on Flavins and Flavoproteins（国際学会）
４．発表年 2017年

１．発表者名 Daisuke Seo, Masaharu Kitashima, Kazuhito Inoue, Hirofumi Komori
２．発表標題 Enzymatic characterization of ferredoxin-NADP+ oxidoreductase paralogue YcgT from gram-positive bacterium Bacillus subtilis
３．学会等名 第55回日本生物物理学会年会
４．発表年 2017年

１．発表者名 Daisuke Seo, Norifumi Muraki, Genji Kurisu
２．発表標題 Kinetic and structural analyses of ferredoxin-NAD(P)+ oxidoreductases from Rhodopseudomonas palstris: insight into the catalysis with NADP+/H
３．学会等名 8th International Conference Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability 2017（国際学会）
４．発表年 2017年

１．発表者名 Daisuke Seo
２．発表標題 Role of C-terminal residues of ferredoxin-NADP+ reductase from green sulfur bacterium during the catalysis with NADP+/H
３．学会等名 第90回日本生化学会大会
４．発表年 2017年

１．発表者名 瀬尾悌介、北島正治、井上和仁
２．発表標題 Fdの共存がferredoxin-NADP+還元酵素のNADP+還元速度に与える影響の速度論解析
３．学会等名 第61回植物生理学会年会
４．発表年 2020年

１．発表者名
瀬尾悌介、北島正治、井上和仁

２．発表標題
緑色硫黄細菌ferredoxin-NADP+酸化還元酵素と基質間の酸化還元反応の特異性

３．学会等名
第57回日本生物物理学会年会

４．発表年
2019年

１．発表者名
林壱星、瀬尾悌介

２．発表標題
Cooperative role of ferredoxin in Chlorobaculum tepidum ferredoxin-NADP+ reductase-catalyzed reaction with NADP+/H

３．学会等名
第92回日本生化学会大会

４．発表年
2019年

１．発表者名
瀬尾悌介、村木則文、栗栖源嗣

２．発表標題
Role of the re-face Tyr328 residue in ferredoxin-NADP+ oxidoreductase from Rhodopseudomonas palustris during catalysis with NADP+/H

３．学会等名
第92回日本生化学会大会

４．発表年
2019年

１．発表者名
瀬尾悌介

２．発表標題
枯草菌ferredoxin-NADP+酸化還元酵素ホモログの生理的機能の推察

３．学会等名
グラム陽性菌ゲノム機能会議

４．発表年
2019年

１．発表者名 Daisuke Seo, Masaharu Kitashima, Kazuhito Inoue
２．発表標題 Kinetic analysis of the reaction between NADP+/H and ferredoxin-NAD(P)+ reductase from green sulfur bacterium in the presence of ferredoxin
３．学会等名 10th International Conference Photosynthesis and Hydrogen Energy Research for Sustainability 2019（国際学会）
４．発表年 2019年

１．発表者名 瀬尾悌介
２．発表標題 紅色非硫黄細菌ferredoxin-NADP+酸化還元酵素のTyr328の機能
３．学会等名 第10回日本光合成学会年会およびシンポジウム
４．発表年 2019年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

－

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
研究協力者	林　壱星 (Hayashi Issei)		
連携研究者	栗栖　源嗣 (Kurisu Genji) (90294131)	大阪大学・たんぱく質研究所・教授 (14401)	
連携研究者	小森　博文 (Komori Hirofumi) (30382261)	香川大学・教育学部・准教授 (16201)	