

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月31日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2009～2012

課題番号：21245041

研究課題名（和文） 呼吸酵素における、酸素還元と一酸化窒素還元機能変換と分子進化

研究課題名（英文） Molecular Evolution of Respiratory Enzymes; Functional Conversion from NO Reduction to O₂ Reduction

研究代表者

城 宜嗣 (SHIRO YOSHITSUGU)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・主任研究員

研究者番号：70183051

研究成果の概要（和文）：

一酸化窒素還元酵素（NOR）は、嫌気呼吸の鍵となる呼吸酵素であり、細胞毒性の高い一酸化窒素 NO を亜酸化窒素 N₂O に変換する鉄含有膜内在性酵素である。P. aeruginosa の cNOR と G. stearothermophilus の qNOR の結晶構造を明らかにした。これら構造を基盤に、酵素反応の分子機構ならびに触媒プロトン移動機構を提案した。また、好気呼吸酵素との構造機能比較より、呼吸酵素の分子進化を議論した。

研究成果の概要（英文）：

Nitric oxide reductase (NOR) is a key enzyme of anaerobic respiration, which catalyzes decomposition of cytotoxic NO to N₂O. We determined the crystal structures of the membrane-integrated enzymes, cNOR from P. aeruginosa and qNOR from G. stearothermophilus. On the basis of these structures, we proposed the molecular mechanism of the enzymatic NO reduction and the proton transfer, and discussed the molecular evolution of the respiratory enzymes from anaerobic to aerobic systems.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	10,500,000	3,150,000	13,650,000
2010年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2011年度	8,600,000	2,580,000	11,180,000
2012年度	8,800,000	2,640,000	11,440,000
総計	36,500,000	10,950,000	47,450,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・生体関連化学

キーワード：一酸化窒素、呼吸酵素、脱窒、亜酸化窒素、温室効果ガス、オゾン層破壊、分子進化

1. 研究開始当初の背景

脱窒細菌の一酸化窒素還元酵素（Nitric Oxide Reductase: NOR）は、ヘム鉄と非ヘム鉄からなる複核中心を酵素反応の活性中心とする、膜内在性のタンパク質である。NOR は、脱窒という嫌気呼吸の鍵となる酵

素であり、呼吸酵素の分子進化を考える上で、好気呼吸の鍵酵素であるチトクロム酸化酵素（COX）と類縁であると考えられてきた。すなわち、呼吸酵素は、30億年前に地球上に酸素分子が出現した後、NORを鋳型として、反応性がNO還元から酸素O₂還元へと変換

さら、それに伴って細胞膜を挟んだプロトンポンプ機能を獲得してきたと、考えられてきた。チトクロム酸化酵素は、20年程前に結晶構造が決定され、その構造情報を基盤に、O₂還元とそれに伴うプロトンポンプの分子機構の詳細が議論されてきた。しかし、呼吸酵素の鋳型である NOR に関しては、いくつかの生化学ならびに化学的な研究が有ったのみで、結晶構造は未成功であった。

2. 研究の目的

膜タンパク質である NOR の結晶構造解析を成功させて、構造を基盤にして、その触媒反応機構 (NO 還元 ; N-N 結合の生成と N-O 結合の開裂) を明らかにする事と、呼吸酵素の分子進化を分子・原子レベルで議論する構造情報を得る事を目的とした。

3. 研究の方法

緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* 由来の cNOR と *Geobattilus stearothrmophilus* 由来の qNOR を単離し、高純度に精製した後に、結晶化した。得られた結晶を試料として、SPRing-8 において X 線結晶構造解析を行った。

4. 研究成果

全体構造 : cNOR はヘム c を含む NorC サブユニットと、2つのヘム b と非ヘム鉄を含む NorB サブユニットからなっていた。NorC サブユニットは、ヘム c を含む親水的な球状ドメインと 1本の膜貫通ヘリックスからなっていた。NorB サブユニットは2つのヘム b と非ヘム鉄を含む 12本の膜貫通ヘリックスからなっていた。一方の qNOR は一本のペプチド鎖からなっており、cNOR の NorC と NorB サブユニットをつなぐヘリックスが一本余分にある以外は、その全体構造は cNOR と類似であった。両 NOR の全体構造、特にこの膜貫通の疎水性ヘリックス領域を、好気呼吸の COX の構造と比較してみると、非常によく似ていた。これらの呼吸酵素が進化的に非常に近い関係にあり、「ヘム-銅酸化酵素スーパーファミリー」を形成する事の構造的な裏付けが得られた。

しかし、親水性ドメインは各酵素で特徴的の構造を有していた。COX では、Cu_A 二核錯体を含む β シートの多いキュブレドキシン類似のフォールドであるのに対し、NOR の親水性ドメインは α ヘリックスの多いチトクロム c 類似のフォールドをしていた。cNOR はヘム c を有しているが、qNOR はヘム c の代わりにいくつかの芳香環が存在し、チトクロム c フォールドの構造安定化に寄与しているようである。この発見は、分子進化における構造変換に関連あるかもしれない。

活性部位の構造 : NOR の活性部位は、ヘム b と非ヘム鉄からなる二核鉄の錯体 (複核錯体) であった。我々は、酸化休止型の構造を得たが、この状態では、ヘム鉄には第五軸配位子としてヒスチジン His のイミダゾール基が配位し、第六配位座は非ヘム鉄と架橋するための酸素原子 (μ-oxo) が占めていた。非ヘム鉄は、この酸素原子に加えて、3つのヒスチジン His のイミダゾール基と、1つのグルタミン酸 Glu のカルボキシル基が配位した三角形両錐型配位構造をしていた。両鉄間の距離は 3.8 Å であった。これらの配位アミノ酸、すなわち 4つの His と 1つの Glu はすべての脱窒菌 NOR で保存されている。

NOR 反応の分子機構 (作業仮説) : COX による O₂ 還元の反応機構は大変よく研究されてきたのに対して、NOR による NO 還元 (N₂O 産生) の分子機構は未だ確立していない。COX では、1分子の O₂ が複核中心で還元されるのに対して、NOR には2分子の NO が何らかの形でこの複核活性部位に配位しなければならない。我々は、以前に報告した短寿命反応中間体の ESR スペクトルと、今回明らかにした NOR の結晶構造を基に、作業仮説として NO 還元の分子機構を提案した。すなわち、その機構においては、2分子の NO が還元型のヘムおよび非ヘム鉄に結合し (Fe²⁺-NO)、その後、分子内の電子移動により Fe³⁺-NO⁻へと変化した後、不均化反応によりハイポナイトライト ON-NO⁻を生成、プロトン H⁺の付加により N-O 結合が開裂して N₂O と H₂O が生成する。

プロトン移動経路 : 呼吸酵素によるプロトン輸送は、生物の「呼吸」の本質に関わる問題である。COX による好気呼吸の特徴は、O₂ 還元反応に共役して、細胞内 (あるいはミトコンドリアマトリックス) から細胞膜をはさんで、細胞外へプロトンの能動輸送を行う事である (プロトンポンプ)。形成されるプロトンの濃度勾配は ATP 合成酵素による ATP 合成に用いられる。この際、触媒プロトンとポンププロトンは、COX 内部に存在する K チャネル、D チャネルと呼ばれる水分子ならびにアミノ酸側鎖の水素結合によって形成される経路を通じて、活性中心を経て細胞外に運ばれるとされている。これに対して NOR はプロトンポンプ機能を持たないとされていた。

cNOR の結晶構造から、2つのヘムのプロピオン酸残基の近傍には水分子がクラスターを形成していることが観測され、この水クラスターと細胞膜のペリプラズム側の溶媒の水とは水素結合ネットワークにより連結されていた。分子動力学シミュレーションによれば、この水素結合ネットワークが、触媒反

応時に cNOR 活性中心にプロトンを輸送する経路である。しかし、酵素活性中心からみて細胞膜のサイトプラズム側のタンパク質構造は非常に疎水的であった。一方、qNOR では、ペリプラズム側には水素結合ネットワークは観測されず、サイトプラズム側に水分子を多く含むチャンネルが観測された。すなわち、cNOR と qNOR 共に、細胞内外をつなぐチャンネルを持たず、NOR がプロトンポンプ活性を持たない事と一致している。しかし、触媒プロトンは、cNOR はペリプラズム側から、qNOR はサイトプラズム側から供給される事を示唆していた。同じ NO 還元活性を持ちながら、cNOR と qNOR ではプロトンの供給経路が異なっているのである。cNOR の結果は、以前の生化学的な実験とよく一致していたが、qNOR は未だ生化学的な実験が十分になされておらず、今後の研究を待ちたい。

COX との比較で興味深いのは、qNOR の水チャンネルの位置が COX の K チャンネルの位置と同じであることである。qNOR の水チャンネルを鋳型にして、COX の K チャンネルが出来上がった可能性も考えられる。qNOR は cNOR と比べて生化学的な実験が少なく、今までプロトン供給経路に関して明確な議論は無かったが、今後はより詳細な機能解析の必要性を示している。

呼吸酵素の分子進化：以上のように、2つの NOR の構造が明らかになったことにより、呼吸酵素の分子進化を、構造を基盤に議論できるスタートラインに立てた。特に、親水性ドメインの構造、Ca²⁺結合、複核錯体の構造(特に非ヘム金属の配位子)、プロトン輸送経路などの構造の詳細内比較が、重要なポイントであることが明確にできた。しかし、これらのポイントを COX と cNOR、qNOR と比較すると、単純な経路で進化したとは思われない。一方、プロトン輸送経路のみに注目すると、qNOR と cNOR が融合して COX のプロトンチャンネルが形成されたと考えられる。今後は、より詳細なデータを蓄積することにより酵素反応の分子機構を確立すると同時に、変異導入により NOR を COX にできるか？またその逆も可能か？などのテーマにも挑戦できる下地ができた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 38 件)

原著論文 (査読有り)

1. Y. Matsumoto, T. Tosha, A. V. Pislakov, T. Hino, H. Sugimoto, S. Nagano, Y. Sugita, Y. Shiro: “Crystal Structure of Quinol-Dependent Nitric Oxide Reductase from *Geobacillus Stearothermophilus*” *Nat.*

- Strl. Mol. Biol.* **19**, 238-245 (2012)
2. A. V. Pislakov, T. Hino, Y. Shiro, Y. Sugita: “Molecular Dynamic Simulations Reveal Proton Transfer Pathways in Cytochrome C-Dependent Nitric Oxide Reductase” *POLS Comp. Biol.* **8**, e1002674 (2012)
3. H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Shiro, H. Ishikawa, Y. Mizutani, S. Aono: “Structural Basis for Oxygen Sensing and Signal Transduction of the Heme-Based Sensor Protein Aer2 from *Pseudomonas aeruginosa*” *Chem. Commun.* **48**, 6523-6525 (2012) doi: 10.1039/c2cc32549g
4. R. Makino, S. Yazawa, H. Hori, Y. Shiro: “Interactions of Soluble Guanylate Cyclase with a P-Site Inhibitor: Effects of Gaseous Heme Ligands, Azide, and Allosteric Activators on the Binding of 2'-Deoxy-3'-GMP” *Biochemistry* **51**, 9277-9289 (2012)
5. S. Asamizu, S. Hirano, H. Onaka, H. Koshino, Y. Shiro, S. Nagano: “Coupling Reaction of Indolepyruvic Acid by StaD and Its Product: Implications of Biosynthesis of Indolocarbazole and Violacein” *ChemBioChem* **13**, 2495-2500 (2012)
6. T. Fujishiro, O. Shoji, N. Kawakami, T. Watanabe, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Watanabe: “Chiral Substrate Analogues Assisted Stereoselective Epoxidation Catalyzed by H₂O₂-Dependent Cytochrome P450SPa” *Chem. Asian J.* **7**, 2286-2293 (2012)
7. T. Yamamoto, Y. Shimizu, T. Ueda, Y. Shiro, M. Suematsu: “Application of Micro-reactor Chip Technique for Millisecond Quenching of Deuterium Incorporation into 70S Ribosomal Protein Complex” *Intl. J. Mass Spectrometry* **302**, 132-138 (2011)
8. R. Makino, S.-Y. Park, E. Obayashi, T. Iizuka, H. Hori, Y. Shiro: “Oxygen Binding and Redox Properties of the Heme in Soluble Guanylate Cyclase : Implications for the Mechanism of Ligand Discrimination” *J. Biol. Chem.* **286**, 15678-15687 (2011)
9. M. Makino, H. Sawai, Y. Shiro, H. Sugimoto: “Crystal Structure of Human Cytochrome c-Hemoglobin Complex” *PROTEINS* **79**, 1143-1153 (2011)
10. S. Asamizu, Y. Shiro, Y. Igarashi, S. Nagano, H. Onaka: “Characterization and Functional Modification of StaC and RebC, Which are Involved in Pyrrole Oxidation of Indolocarbazole Biosynthesis” *Biosci.*

- Biotechnol. Biochem.* **75**, 2184-2193 (2011)
11. T. Fujishiro, O. Shoji, S. Nagano, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Watanabe: "Crystal Structure of H₂O₂-dependent Cytochrome P450_{Spa} with Its Bound Fatty Acid Substrate: Insight into the Regioselective Hydroxylation of Fatty Acids at the a Position" *J. Biol. Chem.* **286**, 29941-29950 (2011)
 12. S. Yanagisawa, M. Horitani, H. Sugimoto, Y. Shiro, N. Okada, T. Ogura: "Resonance Raman study on the oxygenated and the ferryl-oxo species of indoleamine 2,3-dioxygenase during catalytic turnover" *Faraday Discuss.* **1814**, 249-256 (2011)
 13. T. Kurahashi, A. Kikuchi, Y. Shiro, M. Hada, H. Fujii: "Unique Properties and reactivity of High-Valent Manganese-Oxo versus Manganese-Hydroxo in the Salen Platform" *Inorg. Chem.* **49**, 6664-6672 (2010)
 14. K. Hayashi, K. Yasuda, H. Sugimoto, S. Ikushiro, M. Kamakura, A. Kittaka, R. Horst, T. Chen, M. Ohta, Y. Shiro, T. Sakaki: "Three-step Hydroxylations of Vitamin D₃ by a Genetically Engineered CYP105A1" *FEBS Lett.* **277**, 3999-4009 (2010)
 15. H. Nakashima, K. Ikkyu, K. Nakashima, K. Sano, Y. Uto, E. Nakata, H. Nagasawa, H. Sugimoto, Y. Shiro, Y. Nakagawa, H. Hori: "Design of Novel Hypoxia-targeting IDO Hybrid Inhibitors Conjugated with an Unsubstituted L-TRP as an IDO Affinity Moiety" *Adv. Exp. Med. Biol.* **662**, 415-421 (2010)
 16. T. Sakaki, H. Sugimoto, K. Hayashi, K. Yasuda, E. Munetsna, M. Kamakura, S. Ikushiro, Y. Shiro: "Bioconversion of Vitamin D to Its Active Form by Bacterial or Mammalian Cytochromes P450" *Biochim. Biophys. Acta* **1814**, 249-256 (2010)
 17. Y. Okazaki, N. Ohshima, I. Yoshizawa, Y. Kamei, S. Mariggio, K. Okamoto, M. Maeda, Y. Nogusa, Y. Fujioka, T. Izumi, Y. Ogawa, Y. Shiro, M. Wada, N. Kato, D. Corda, N. Yanaka: "A novel Glycerophosphodiester Phosphodiesterase GDE5 Controls Skeletal Muscle Development via a Non-enzymatic Mechanism" *J. Biol. Chem.* **285**, 27652-27663 (2010)
 18. L. W. Chung, X. Li, H. Sugimoto, Y. Shiro, K. Morokuma: "ONIOM Study on a Missing Piece in Our Understanding of Heme Chemistry: Bacterial Tryptophan 2,3-Dioxygenase with Dual Oxidants" *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 11993-12005 (2010)
 19. O. Shoji, T. Fujishiro, S. Nagano, S. Tanaka, T. Hirose, Y. Shiro, Y. Watanabe: "Understanding Substrate Misrecognition of Hydrogen Peroxide-Dependent Cytochrome P450 from *Bacillus subtilis*" *J. Bio. Inorg. Chem.* **15**, 1331-1339 (2010)
 20. S. Yanagisawa, H. Sugimoto, Y. Shiro, T. Ogura: "A Specific Interaction of L-Tryptophan with CO of CO-Bound Indoleamine 2,3-Dioxygenase Identified by Resonance Raman Spectroscopy" *Biochemistry* **49**, 10081-10088 (2010)
 21. T. Hino, Y. Matsumoto, S. Nagano, H. Sugimoto, Y. Fukumori, T. Murata, S. Iwata, Y. Shiro: "Structural Basis of Biological N₂O Generation by Bacterial Nitric Oxide Reductase" *Science* **330**, 1666-1670 (2010)
 22. T. Yamamoto, Y. Shimizu, T. Ueda, Y. Shiro: "Mg²⁺ Dependence of 70S Ribosomal Protein Flexibility Revealed by Hydrogen/Deuterium Exchange and Mass Spectrometry" *J. Biol. Chem.* **285**, 5646-5652 (2010)
 23. J. Hasegawa, Y. Ise, K. Fujimoto, A. Kikuchi, E. Fukumura, A. Miyawaki, Y. Shiro: "Excited States of Fluorescent Proteins, mKO and DsRed: Chromophore-protein Electrostatic Interaction Behind the Color Variations" *J. Phys. Chem. B* **114**, 2971-2979 (2010)
 24. E. Fukumura, H. Sugimoto, Y. Misumi, T. Ogura, Y. Shiro: "Cooperative Binding of L-Trp to Human Tryptophan 2,3-Dioxygenase: Resonance Raman Spectroscopic Analysis" *J. Biochem.* **145**, 505-515 (2009)
 25. Y. Harada, M. Taguchi, Y. Miyajima, T. Tokushima, Y. Horikawa, A. Chainani, Y. Shiro, Y. Senba, H. Ohashi, H. Fukuyama, S. Shin: "Ligand Energy Controls the Heme-Fe Valence in Aqueous Myoglobins" *J. Phys. Soc. Jpn.* **78**, 044802-1 - 5 (2009)
 26. A. Kikuchi, E. Fukumura, S. Karasawa, Y. Shiro, A. Miyawaki: "Crystal Structure of a New Cyan Fluorescent Protein and Its Blue-shifted Variants" *Biochemistry* **48**, 5276-5283 (2009)
 27. Y. Wang, H. Chen, M. Makino, Y. Shiro, S. Nagano, S. Asamizu, H. Onaka, S. Sason: "Theoretical and Experimental Studies of the Conversion of Chromopyrrolic Acid to an Antitumor Derivative by Cytochrome P450 StaP: The Biological Role of Water Molecules" *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 6748-6762 (2009)
 28. Y. Ito, S. Nakagawa, A. Komagata, M.

- Ikeda-Saito, Y. Shiro, H. Nakamura: "Heme-dependent Autophosphorylation of a Heme Sensor Kinase, ChrS from *Corynebacterium diphtheriae* Reconstituted in Proteoliposomes" *FEBS Lett.* **583**, 2244-2248 (2009)
29. S. Yamada, H. Sugimoto, M. Kobayashi, A. Ohno, H. Nakamura, Y. Shiro: "Structure of PAS-linked Histidine Kinase and the Response Regulator Complex" *Structure* **17**, 1333-1344 (2009)
30. H. Sawai, H. Sugimoto, Y. Kato, Y. Asano, Y. Shiro, S. Aono: "X-ray Crystal Structure of the Michaelis Complex of Aldoxime Dehydratase" *J. Biol. Chem.* **284**, 32089-32096 (2009)
31. S. Yanagisawa, K. Yotsuya, Y. Hashiwaki, M. Horitani, H. Sugimoto, Y. Shiro, E. H. Appelman, T. Ogura: "Identification of the Fe-O₂ and the Fe=O Heme Species for Indoleamine 2,3-Dioxygenase during Catalytic Turnover" *Chem. Lett.* **39**, 36-37 (2009)

総説等

32. T. Tosha, Y. Shiro: "Crystal Structures of Nitric Oxide Reductases Provide Key Insights into Functional Conversion of Respiratory Enzymes" IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology) *Life* **65**, 217-226 (2013)
33. T. Hino, S. Nagano, H. Sugimoto, T. Tosha, Y. Shiro: "Molecular Structures and Mechanism of Bacterial Nitric Oxide Reductase" Special Issue on *Respiratory Oxidases* in *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics* **1817**, 680-687 (2012)
34. L. Salomonsson, J. Reimann, T. Tosha, N. Krause, N. Gonska, Y. Shiro, P. Adelroth: "Proton Transfer in the Quinol-dependent Nitric Oxide Reductase from *Geobacillus stearothermophilus* during Reduction of Oxygen" Special Issue on *Respiratory Oxidases* in *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics* **1817**, 1914-1920 (2012)
35. Y. Shiro, H. Sugimoto, T. Tosha, S. Nagano, T. Hino: "Structural Basis for Nitrous Oxide Generation by Bacterial Nitric Oxide Reductases" the Proceedings of the Royal Society Meeting 'Nitrous oxide, the forgotten greenhouse gas', *Philosophical Transactions B, The Royal Society* **367**, 1195-1203 (2012)
36. Y. Shiro: "Structure and Function of Bacterial Nitric Oxide Reductases,

Anaerobic Enzymes" Special Issue on *European Bioenergetic Conference 2012* in *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics* **1817**, 1907-1913 (2012)

37. 日野智也、當舎武彦、城 宜嗣: "一酸化窒素還元酵素の結晶構造から見えてきた呼吸酵素の機能変換" *生物物理*, Vol 52, pp. 186-189 (2012)
38. 日野智也、城 宜嗣: "一酸化窒素還元酵素 NOR —呼吸酵素の分子進化と温室効果ガスの産生メカニズム—" *化学*, Vol 66, pp.30-35 (2011)

[学会発表] (計 13 件) 国際会議の招待講演のみ記入

1. Shiro, Y.: "Molecular Structures and Mechanism of Bacterial Nitric Oxide Reductase" *Seventh International Conference on Porphyrins and Phtalocyanines*, Jeju, Korea, July 1-6 (2012)
2. Shiro, Y.: "Structural Basis for NO Reduction by Bacterial Nitric Oxide Reductases" *17th European Bioenergetics Conference 2012 (EBEC 2012)*, Freiburg, Germany, Sept. 15-20 (2012)
3. Shiro, Y.: "Functional Characterization of Some Hemoproteins Based on Their Molecular Structures" *The 6th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (AsBIC6)*, Hong Kong, Nov. 5-8 (2012)
Plenary Lecture
4. Shiro, Y.: "Functional Characterization of Some Hemoproteins Based on Their Molecular Structures" *The First International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2012)*, Tokyo, Nov. 28-30 (2012)
5. Hino, T., Matsumoto, Y., Pislakov, A., Nagano, S., Sugimoto, H., Sugita, Y., Shiro, Y.: "Molecular Structures and Mechanism of Bacterial Nitric Oxide Reductase" *Third Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences - Experiments and Simulations*, Jeju, Korea, Feb. 28 (2011).
6. Shiro, Y.: "Structural Basis for Nitrous Oxide Generation by Bacterial Nitric Oxide Reductases" *Royal Society Theo Murphy Meeting*, Buckinghamshire, UK, May 23-24 (2011)
7. Shiro, Y.: "Molecular Structures and Mechanism of Bacterial Nitric Oxide Reductase" *Mini-symposium on "Proton Transport across Biological Membranes" of the Royal Swedish Academy of Sciences*, Stockholm, Sweden, June 14 (2011)
8. Shiro, Y.: "Molecular Structures and

Mechanism of Bacterial Nitric Oxide Reductase” *15th International Conference of Biological Inorganic Chemistry*, Vancouver, Canada, August 7-12 (2011)
Keynote Lecture

9. Shiro, Y.: “Iron in Biology” *RIKEN - University of Liverpool Joint Symposium*, Liverpool, UK, Sept. 13-15 (2011)
10. Shiro, Y., Hino, T., Matsumoto, Y., Nagano, S., Sugimoto, H., Tosha, T.: “Nitric Oxide Reductases: Chemistry of N-O bond Cleavage and N-N Bond Formation” *Sixth International Conference on Porphyrins and Phtalocyanines*, New Mexico, USA, July 4-9 (2010)
11. Shiro, Y., Nakamura, H., Ito, Y., Sugimoto, H.: “Two-Component Regulatory System: Cellular Signal Transduction Systems Sensing Exogenous Stimuli” *2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies*, Honolulu, USA, Dec. (2010).
12. Shiro, Y.: “Structure and Function of Nitric Oxide Reductases; Chemistry of NO Reduction and N₂O formation” *1st Korea-Japan Seminars on Biomolecular Sciences - Experiments and Simulations*, Seoul, Korea, Feb.-Mar. (2009)
13. Shiro, Y.: “Structure and Function of Nitric Oxide Reductases; Chemistry of NO Reduction and N₂O Formation” *14th International Conference of Biological Inorganic Chemistry*, Nagoya, Japan, July (2009)

[図書] (計 2 件)

1. H. Sugimoto, O. Takikawa, Y. Shiro: “Tryptophan Catabolism by Heme Dioxygenases” in *Handbook of Porphyrin Science* (K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, Eds.) Vol. 5, Chapter 24, pp.71-122 (2010)
2. Y. Shiro, S. Nagano: “NO Chemistry by Heme-Enzyme” in *Handbook of Porphyrin Science* (K. M. Kadish, K. M. Smith, R. Guilard, Eds.) Vol. 5, Chapter 25, pp.123-163 (2010)

[その他]

ホームページ :

<http://www.riken.jp/biometal/index.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

城 宜嗣 (SHIRO YOSHITSUGU)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・主任研究員

研究者番号 : 7 0 1 8 3 0 5 1

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

杉本 宏 (SUGIMOTO HIROSHI)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・専任研究員

研究者番号 : 90344043

菊地 晶裕 (KIKUCHI AKIHIRO)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・客員研究員

研究者番号 : 90321752

永野 真吾 (NAGANO SHINGO)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・客員研究員

研究者番号 : 60286440

當舎 武彦 (TOSHA TAKEHIRO)

独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・専任研究員

研究者番号 : 00548993