

令和元年5月16日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2014～2018

課題番号：26220807

研究課題名(和文)一酸化窒素の生体内動態の分子科学

研究課題名(英文)Molecular Science of NO Dynamics in Biological System

研究代表者

城 宜嗣 (Shiro, Yoshitsugu)

兵庫県立大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：70183051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 152,100,000円

研究成果の概要(和文)：微生物の嫌気呼吸である脱窒の鍵酵素である一酸化窒素還元酵素(NOR)を取り上げ、その分子構造を基盤に、細胞毒性を有する一酸化窒素NOを、生体がどのように取り扱っているかを明らかにした。NORがNO産生酵素(亜硝酸還元酵素)と複合体を形成している事を明らかにし、NOを細胞内に拡散させずに速やかに消去する仕組みを提案した。その際のNORにおけるNO、プロトン、電子の移動機構を明らかにし、NO消去の分子機構を提案した。これらの提案を基盤に、呼吸酵素が嫌気呼吸から好気呼吸へと進化した過程を、特にプロトンポンプに関して議論した。さらに、病原菌のNORの構造解析にも成功し、活性阻害剤の働く機構を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脱窒は地球上の窒素循環において重要な生物学的プロセスであり、その際に生成する亜酸化窒素(N₂O)は温室効果ガスならびにオゾン層破壊ガスであり、その生成の約7割は、NOR反応(2NO + 2H⁺ + 2e⁻ → N₂O + H₂O)による。この観点から、NORによるN₂O産生の分子科学研究の成果は重要である(環境化学)。NORは生物の呼吸の祖先型酵素であり、酸素を使わない呼吸(嫌気呼吸)から酸素を使った呼吸(好気呼吸)への分子進化への手がかりを得た(基礎生物学)。病原菌もその感染増殖に活用する為にNORを有することから、その阻害剤開発の基礎データを得た(医科学)。

研究成果の概要(英文)：Denitrification is a kind of anaerobic respiration of microorganism, in which nitrate and nitrite are converted into N₂ through intermediate formation of cytotoxic nitric oxide NO (NO₃⁻, NO₂⁻, NO, N₂O, N₂). In this study, we have studied nitric oxide reductases NOR, a key enzyme of the denitrification, which detoxifies NO as follows; 2NO + 2H⁺ + 2e⁻ → N₂O + H₂O. We newly found that NOR, NO decomposing enzyme, makes a complex with the NO-generating enzyme, nitrite reductase for the rapid NO detoxification without diffusing NO into the cell. We characterized the catalytic reaction with the time-resolved techniques, and proposed the molecular mechanism of the NO detoxification by NOR. These proposals allowed us to discuss the molecular evolution of respiratory enzymes from anaerobic to aerobic system. We also characterized the structural and functional changes of NORs of pathogens upon inhibitor binding.

研究分野：生命金属分子科学

キーワード：一酸化窒素 脱窒 一酸化窒素還元酵素 呼吸酵素 金属酵素 膜タンパク質

1. 研究開始当初の背景

脱窒 *denitrification* は、硝酸 NO_3 および亜硝酸 NO_2 を窒素 N_2 まで逐次還元する微生物の嫌気呼吸の一つであり ($\text{NO}_3 \rightarrow \text{NO}_2 \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$)、地球上の窒素循環の重要なプロセスである。この過程で、産生される一酸化窒素 NO は細胞毒性が高いため、速やかに亜酸化窒素 N_2O に変換されている。この NO 消去反応 ($2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$) を触媒する酵素として一酸化窒素還元酵素 (*nitric oxide reductase: NOR*) が同定されていた。本研究の研究代表者は、1997年に脱窒カビの NOR、2010年と2012年に脱窒菌の2種類の NOR の結晶構造を報告し (図1) ¹⁻³、その NO 消去反応の分子機構 (作業仮説) を提案していた。NOR は好気呼吸 (酸素を使った呼吸) 酵素であるチトクロム *c* 酸化酵素 (*cytochrome c oxidase: CcO*) と進化的に近い関係にある事が仮説として提案されていたが、分子構造が明らかになったことにより、その仮説の正しさが証明された。さらに、以上のような基礎化学、基礎生物学的な重要性に加えて、2009年に *Science* 誌上 (Vol. 326) で、 NO 消去反応の生成物である N_2O が温室効果ガスならびにオゾン層破壊ガスとして 21世紀には大きな問題となるとの警鐘が鳴らされた⁴。 N_2O 発生の7割が微生物の脱窒によるものであることから、環境科学の側面からも NOR は注目されるようになっていた。加えて、いくつかの病原菌が、感染した宿主が産生する抗菌ガス (NO) を無毒化し自らを保護するために NOR を有していることも知られており、医科学の側面からも注目されていた。

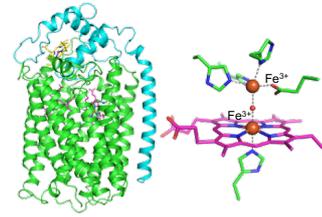


図1. 脱窒菌 NOR の全体構造 (左) と活性中心の構造 (右)

2. 研究の目的

本研究では、以下の4点を研究目的とした。

- (1) NOR 酵素反応の分子機構の確立: NOR 分子構造を基にして、 NO 、プロトン (H^+)、電子 (e^-) の移動、短寿命反応中間体の配位構造と電子状態を明らかにし、NOR による NO 消去の分子機構を提案する。それは、以下の3テーマを分子レベルで明らかにする基盤となる
- (2) 生体内 NO 動態の解明: 脱窒過程において、 NO は亜硝酸還元酵素 (*nitrite reductase: NiR*) によって産生される ($\text{NO}_2^- + 2\text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{NO} + \text{H}_2\text{O}$) が、産生された NO がもし細胞内に拡散してしまえば、 NO の細胞毒性により脱窒菌は生存できない。NiR (NO 産生酵素) から NOR (NO 消去酵素) へ速やかに NO を移動させるシステムを明らかにする。細胞毒性が高いが重要なシグナル分子 NO を、生体が如何に取り扱っているのかの知る指針となる。
- (3) 生体内 NO 動態の制御: 阻害剤等を用いて、 NO の移動と消去のプロセスを制御することを目的とする。この成果は、例えば抗菌薬の開発の基盤となる。
- (4) 呼吸酵素の分子進化の解明: 好気呼吸酵素 CcO は、銅とヘム鉄の二核錯体を活性中心に有し、酸素還元 ($\text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^- \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$) に共役して膜を通したプロトンの能動輸送を行う (プロトンポンプ)。生じた膜内外のプロトン濃度勾配は ATP 合成に使用される。本研究対象である NOR は非ヘム鉄とヘム鉄の二核錯体を活性中心に有し、そこで NO の還元反応をおこなう。プロトンポンプ機能の有無は確立していなかった。NOR から CcO へ、呼吸酵素の分子進化を分子レベルで理解することを目的とした。

3. 研究の方法

緑膿菌 (*Ps. aeruginosa*) 由来のチトクロム *c* 依存 NOR (*PacNOR*)、髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) 由来のキノール依存 NOR (*NmqNOR*)、日和見感染菌の一種 (*A. xylosoxidans*) のキノール依存 NOR (*AxqNOR*) を研究対象とした。分子生物学・生化学的手法を用いて、これら酵素の安定な大量発現系を構築し、単離生成ならびに酵素活性の測定を行なった。構造解析には X 線結晶構造解析とクライオ電顕を併用した。また、時間分解可視および赤外分光解析には測定装置を自作し、紫外光パルス照射によってマイクロ秒の時間領域でほぼ定量的に NO を発生する *caged NO* (図2) を反応開始トリガーと NO 発生源として使用するポンプ・プローブ法を用いた。さらに、本研究申請時には利用できなかった、X 線自由電子線レーザー-SACLA を活用した、時間分解 X 線結晶構造解析も行なった。

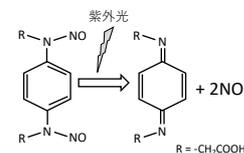


図2. Caged NO

4. 研究成果

(0) NOR 発現系の構築

本研究において安定に大量の試料を供給し、変異体調製が可能となるよう、大腸菌をホストとする発現系構築を試みた。*NmqNOR* と *AxqNOR* に関しては成功したが、*PacNOR* では非ヘム鉄部位に亜鉛が置換した不活性な試料しか得られなかった。そこで、NOR 遺伝子を破壊した緑膿菌 (Δnor) をホストとした *PacNOR* 発現系構築に成功した。変異 NOR を含んだ *PacNOR* 発現緑膿菌の生育と変異 NOR の酵素活性の間に良い相関を見出し、酵素活

性の *in vivo* screening 系として報告した (文献⑤)。その系から各種変異体の単離精製法、さらに LCP (Lipidic Cubic Phase)法を用いた結晶化法を確立した。

(1) NOR 酵素反応の分子機構の確立

時間分解可視分光法を用いて、嫌気条件下での *PacNOR* と NO との反応を μ 秒~ミリ秒の時間領域で追跡し、その際のスペクトル変化の測定に成功した (図 3 a)。このスペクトル変化を Global Fitting 法で解析した結果、NOR 酵素反応は三段階で進行し (図 3 b)、第一相と第三相の反応速度が NO 濃度依存性を示した (図 3 c)。また、反応に利用されるプロトン供給経路上に存在するアミノ酸残基 (Glu57、Asp198) に変異を導入し、プロトン輸送を遮断した不活性変異体 (E64A、D198V) に関して同様の測定を行なった。その結果、第三相が観測されず、このステップでプロトンが供給され NO から N_2O に反応が進行すると結論した。

さらに、第一相後と第二相後に現れる短寿命反応中間体の NO 伸縮振動を時間分解赤外スペクトルで測定することに成功した (図 4)。第一の反応中間体 (10 μ 秒) では、NO 伸縮振動は 1683cm^{-1} に観測され、従来から報告されている文献値を参考に、非ヘム鉄に NO が結合していると結論した。第二反応中間体 (0.3~1 m 秒) では、 1550cm^{-1} に NO 伸縮振動が観測され、第二相の反応で、鉄から NO に 1 電子あるいは 2 電子移動したと結論した。これらの結果を基に、図 5 の反応機構を提案している。この分子機構では、第三相で第二反応中間体の NO (鉄上で電子で活性化された NO) とプロトンならびに二分子目の NO との反応で N_2O と H_2O が産生するとした (論文投稿中)。従来、様々な実験・理論研究により 3 つの反応機構が提案されていたが、この結果により最終決着をみた。

当該分野の将来を考えると、酵素の短寿命反応中間体の構造解析やタンパク質の動的構造解析の手法が必要となる。脱窒菌 NOR を対象と考えた場合、2 つ反応中間体の構造解析を試みていきたい。そこで、その為の測定解析の技術開発を行なった。試料として、水溶性の脱窒カビ NOR (P450nor) を用いた。この酵素による NO 消去反応の反応中間体の寿命は秒単位である。caged NO ならびに電子供与体 (NADH) を共存させた P450nor 結晶に、SACLA のフェムト秒 X 線レーザーを光源としたポンプ・プローブ法による時間分解 X 線結晶構造解析を行なった。その結果、図 6 に示すように、鉄への NO 配位構造を基盤にした反応機構を確定した (文献⑦)。時間分解 X 線結晶構造解析による酵素反応の反応中間体の世界初の報告である。

(2) 生体内 NO 動態の解明

生体中で NO を産生する酵素は、脱窒微生物の NO 産生酵素 (NiR) と哺乳動物の NO 合成酵素 (nitric oxide synthase: NOS) である。いずれの場合も、産生 NO は次のタンパク質 (NiR の場合は NO 消去酵素 (NOR)、NOS の場合は NO 受容体) に受け渡されなければならない。このような生体内 NO 動態を、脱窒における NiR から NOR への NO 受け渡し機構を研究対象として研究した。NiR は水溶性タンパク質であり、NOR は膜結合性タンパク質である。細胞内のような様々な生体物質が密に存在する (crowding) 状態で、NiR から NOR に如何に速やかに NO を受け渡すのであろうか? その仕組みとして、両酵素が複

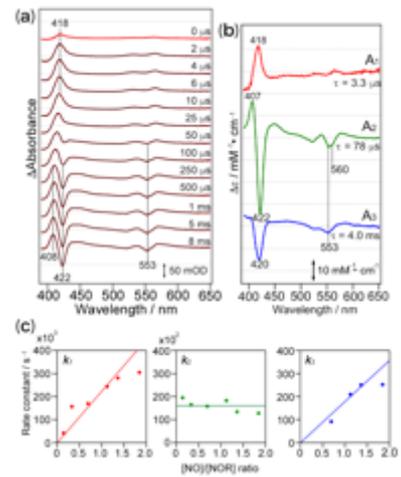


図 3. (a) NOR と NO の反応のスペクトルの時間変化、(b) スペクトル変化の 3 成分、(c) 3 成分の速度定数の NO 濃度依存性

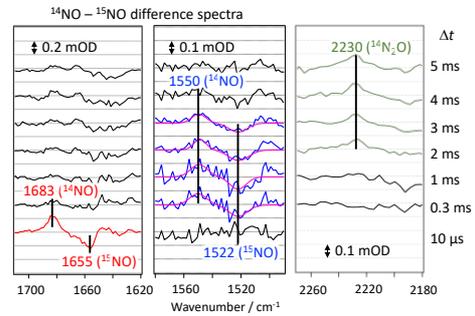


図 4. NOR 反応で現れる 2 つの反応中間体の N-O 伸縮振動 (左・中) と生成物 N_2O の N-N 伸縮振動 (右)。 ^{15}NO と ^{14}NO を用いて反応中間体を産生させ、その差スペクトルを示した。

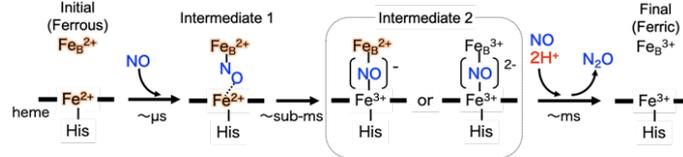


図 5. 提案した NOR による NO 消去反応の分子機構

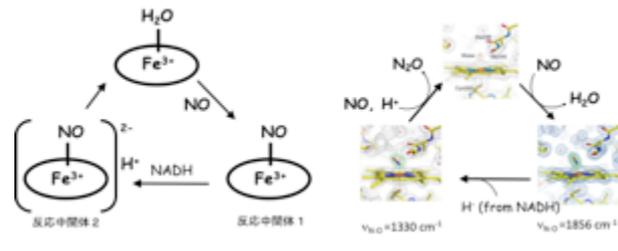


図 6. 脱窒カビ NOR の反応機構 (左) と対応する反応中間体の NO 配位構造 (SACLA 時間分解 X 線結晶構造解析)

合体を形成していることを明らかにした (図7)。この構造を基盤にした分子動力学計算により、NiR で産生された NO はその疎水性のために、速やかに細胞膜ないに移動することが明らかとなった (文献⑧)。本研究成果は、生体内 NO 動態を分子レベルで理解できた最初の例である。 NOR には細胞膜貫通部分に活性中心へと繋がる疎水性のチャネルが存在しており、細胞膜中の NO は $10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ で活性中心へと移動する。活性中心の入り口には、よく保存された Val 残基が存在し、NO の活性中心への移動を動的に制御していることが明らかとなった (論文作成中)。

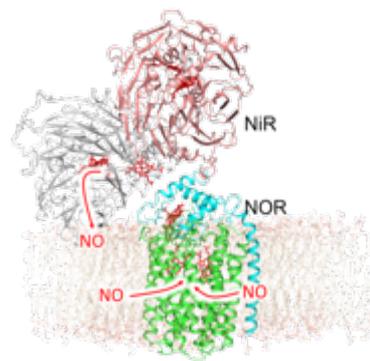


図7. NiR と NOR の複合体の構造

(3) 生体内 NO 動態の制御

病原菌の有する NOR の NO 消去活性を阻害することは、抗菌剤開発に繋がる研究テーマである。 X 線結晶構造解析とクライオ電顕法により、AxqNOR と NmQNOR の電子供与体キノール結合部位周辺の構造情報を得た (文献①⑥)。反応速度ならびに活性測定から、電子供与体の Michaelis-Menten 定数 K_m ならび触媒反応定数 k_{cat} を求めた。さらに阻害剤としてベンゾキノールと HQNO を用いて、それぞれの阻害形式と阻害定数 K_i を求めた (図8)

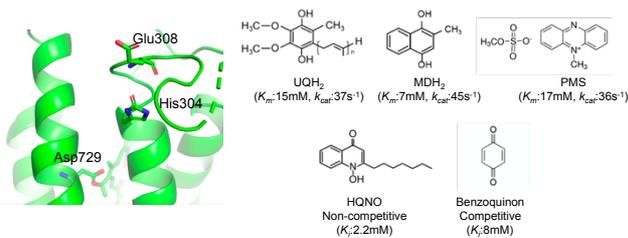


図8. qNOR の電子供与体キノールの結合部位の構造 (左) と各種電子供与体ならびに阻害剤の構造と反応定数

(論文作成中)。現在、阻害剤結合型 NOR の構造解析を進行中である。

(4) 呼吸酵素の分子進化の解明

従来から cNOR はプロトンポンプ機能を有しないと考えられてきた。実際、PacNOR の結晶構造には、ペリプラズム側から活性中心へのプロトン輸送経路は同定されたが、サイトプラズム側にはそのような経路は観測されず、従来の予想は確認された。一方、qNOR の構造では、ペリプラズム側から活性中心へのプロトン輸送経路はみられず、逆にサイトプラズム側から活性中心へ水チャネルの存在が確認された (図9)。qNOR は、NO 還元反応におけるキノールの酸化に共役して、わずかではあるがプロトン濃度勾配を形成しており、プロトンポンプの原型と見られた (文献⑥)。本研究により、好気呼吸酵素のプロトンポンプ機能は、cNOR と qNOR の2つの NOR を鋳型として進化したと提案できた。

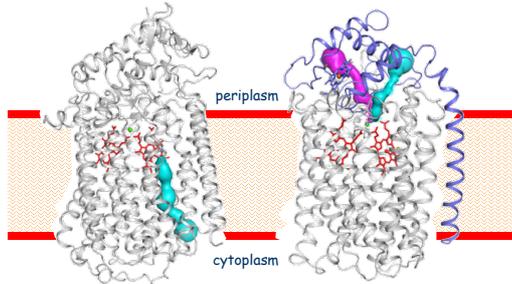


図9. qNOR (左) と cNOR (右) の水素結合ネットワークならびに水チャネル (シアンおよびマゼンダ)

一方、NOR を鋳型にして変異導入により、活性中心の構造を NOR 型 (非ヘム鉄とヘム鉄の二核錯体) から CcO 型 (銅とヘム鉄の二核錯体) へと変換することを試みたが、成功しなかった。よって、NO 還元活性から O₂ 還元活性への進化における機能変換の実例を得ることはできなかった。本申請研究の目的の一つであったが、未だ解決できない課題である。

(5) その他

本研究の対象 NOR が、鉄を活性中心に有する膜タンパク質であったことから、本研究で得た技術と知見を基に、鉄の生体内動態に關与するいくつかの膜タンパク質の構造機能解析に展開することが可能となった (図10)。 人の小腸における鉄吸収に関わる鉄還元酵素 (文献③)、病原菌の鉄動態に関わるヘムの膜輸送体 (文献⑨)、ヘム鉄濃度を感知するセンサータンパク質の類縁体 (文献④) の構造解析にも成功している。さらに、クライオ電顕、時間分解分光ならびに X 線結晶構造解析法にも精通でき、将来のこれらタンパク質の動的構造解析の道も拓けた。

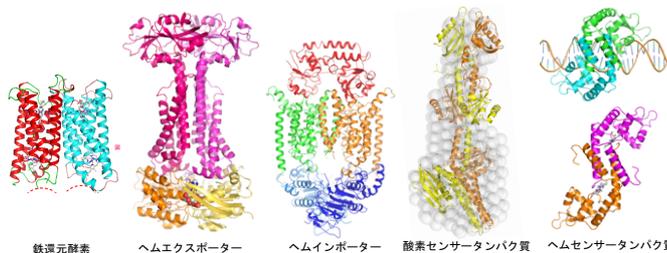


図10. 生体内の鉄動態に關与する各種タンパク質の結晶構造

さらに、クライオ電顕、時間分解分光ならびに X 線結晶構造解析法にも精通でき、将来のこれらタンパク質の動的構造解析の道も拓けた。

<引用文献>

1. S.-Y. Park, H. Shimizu, S. Adachi, A. Nakagawa, I. Tanaka, K. Nakahara, H. Shoun, E. Obayashi, H. Nakamura, T. Iizuka, **Y. Shiro**: "Crystal Structure of Nitric Oxide Reductase from Denitrifying Fungus *Fusarium oxysporum*" *Nature Strl. Biol.* **4**, 827-832 (1997)
2. 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) doi:10.1126/science.1195591
3. 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) doi: 10.1038/nsmb.2213
4. A. R. Ravishankara, et al. : "Nitrous Oxide (N₂O): The Dominant Ozone-Depleting Substance Emitted in the 21st Century" *Science*, **326**, 123-125 (2009) DOI: 10.1126/science.1176985

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 37 件) うち 26 件は省略した

- ① C. Gopalasingam, G. Chiduzha, T. Tosha, M. Yamamoto, Y. Shiro, S. V. Antonyuk, S. Muench, S. S. Hasnain: "Structure of Quinol-dependent Nitric Oxide Reductase from *Alcaligenes xylosoxidans* by Cryo-electron microscopy" *Science Adv.* (2019) *in press*
- ② M. Kato, S. Nakagawa, T. Tosha, Y. Shiro, Y. Masuda, K. Nakata, I. Yagi: "Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy of Bacterial Nitric Oxide Reductase under Electrochemical Control Using Vibrational Probe of Carbon Monoxide" *J. Phys. Chem. Lett.* **9**, 5196-5200 (2018) DOI: 10.1021/acs.jpcclett.8b02581
- ③ M. Ganasen, H. Togashi, H. Takeda, H. Asakura, T. Tosha, K. Yamashita, K. Hirata, Y. Nariai, T. Urano, X. Yuan, I. Hamza, A. G. Mauk, Y. Shiro, H. Sugimoto, H. Sawai: "Structural Basis for Promotion of Duodenal Iron Absorption by Enteric Ferric Reductase with Ascorbate" *Commun. Biol.* **1**: 120 (2018) DOI: 10.1038/s42003-018-0121-8
- ④ G. S. A. Wright, A. Saeki, T. Hikima, Y. Nishizono, T. Hisano, M. Yamamoto, S. V. Antonyuk, S. S. Hasnain, Y. Shiro, H. Sawai: "Architecture of a Complete Two-Component Signal Transduction System: Oxygen-Sensing Proteins FixL, FixJ, and The FixL-FixJ Complex" *Sci. Signal.* **11**, aaq0825 (2018) DOI: 10.1126/scisignal.aaq0825
- ⑤ R. Yamagiwa, T. Kurahashi, M. Takeda, M. Adachi, H. Nakamura, H. Arai, Y. Shiro, H. Sawai, T. Tosha: "*Pseudomonas aeruginosa* Overexpression System of Nitric Oxide Reductase for *in vivo* and *in vitro* Mutational Analyses" *Biochim. Biophys. Acta Bioenergetics* **1859**, 333-341 (2018) DOI: 10.1016/j.bbabi.2018.02.009
- ⑥ N. Gonska, D. R. Young, R. Yuki, T. Okamoto, T. Hisano, S. V. Antonyuk, S. S. Hasnain, K. Muramoto, Y. Shiro, T. Tosha, P. Adelroth: "Characterization of the Quinol-dependent Nitric Oxide Reductase from the Pathogen *Neisseria meningitidis*, an Electrogenic Enzyme." *Sci. Rep.* **8**, 3637 (2018) DOI: 10.1038/s41598-018-21804-0
- ⑦ T. Tosha, T. Nomura, T. Nishida, N. Saeki, K. Okubayashi, R. Yamagiwa, M. Sugahara, T. Nakane, K. Yamashita, K. Hirata, G. Ueno, T. Kimura, T. Hisano, K. Muramoto, H. Sawai, H. Takeda, E. Mizohata, A. Yamashita, Y. Kanematsu, Y. Takano, E. Nango, R. Tanaka, O. Nureki, Y. Ikemoto, H. Murakami, S. Owada, K. Tono, M. Yabashi, M. Yamamoto, H. Ago, S. Iwata, H. Sugimoto, Y. Shiro, M. Kubo: "Capturing an Initial Intermediate during Enzymatic Reaction of P450nor using Time-Resolved XFEL Crystallography and Caged-Substrate" *Nat. Commun.* **8**, 1585 (2017) doi: 10.1038/s41467-017-01702-1
- ⑧ E. Terasaka, K. Yamada, P.-H. Wang, K. Hosokawa, R. Yamagiwa, K. Matsumoto, S. Ishii, T. Mori, K. Yagi, H. Sawai, H. Arai, H. Sugimoto, Y. Sugita, Y. Shiro, T. Tosha: "Dynamics of Nitric Oxide Controlled by Protein Complex in Bacterial System" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **114**, 9888-9893 (2017) doi: 10.1073/pnas.1621301114
- ⑨ Y. Naoe, N. Nakamura, A. Doi, H. Nakamura, Y. Shiro, H. Sugimoto: "Crystal Structure of Bacterial Heme Importer Complex in Inward-facing Conformation" *Nature Commun.* **7**, 13411 (2016) doi: 10.1038/ncomms13411
- ⑩ E. Terasaka, N. Okada, N. Sato, Y. Sako, Y. Shiro, T. Tosha: "Characterization of Quinol-Dependent Nitric Oxide Reductase from *Geobacillus Stearothermophilus*: Enzymatic Activity and Active Site Structure" Special Issue on *Respiratory Oxidases* in *Biochim. Biophys. Acta - Bioenergetics* **1837**, 1019-1026 (2014)
- ⑪ N. Sato, S. Ishii, H. Sugimoto, T. Hino, Y. Fukumori, Y. Sako, Y. Shiro, T. Tosha: "Structures of Reduced and Ligand-Bound Nitric Oxide Reductase Provide Insights into Functional Differences in Respiratory Enzymes" *PROTEINS: Structure, Function, and Bioinformatics* **82**, 1258-1271 (2014) doi: 10.1002/prot.24492

[学会発表] (計 15 件) 国際会議の招待講演に限った。9 件を省略した

- ① Shiro, Y.: "Coordination and Electronic Structures of Short-Lived Intermediate in Heme-Containing NO Reductases" "*Chemistry and Biology of Tetrapyrroles*" *Gordon Research Conference*, Newport, USA, July 15-20 (2018)
- ② Shiro, Y.: "Characterization of Coordination and Electronic Structures of Intermediates Appeared

in NO Reduction by NO Reductases” 5th Ringberg Workshop on Structural Biology with FELs, Munchen, Germany, Feb. 4 - 7 (2018)

- ③ Shiro, Y.: “Dynamics of Nitric Oxide in Bacterial Cellular System” “Cell Biology of Metals” Gordon Research Conference, West Dover, VT, USA, July. 26-31 (2015)
- ④ Shiro, Y.: “Molecular Mechanism of NO Decomposition by Nitric Oxide Reductases” ICBIC17 17th International Conference of Biological Inorganic Chemistry, Beijing, China, July 20-24 (2015)
- ⑤ Shiro, Y.: “Generation, Channeling and Decomposition of NO in Bacterial System” “Metals in Biology” Gordon Research Conference, Ventura, USA, Jan. 25-30 (2015)
- ⑥ Shiro, Y.: “Generation, Propagation and Decomposition of Nitric Oxide in Bacterial Denitrification” 18th European Bioenergetics Conference (EBEC 2014), Lisbon, Portugal, July 12-17 (2014) **Plenary Lecture**

[図書] (計 4 件)

- ① T. Tosha, Y. Shiro.: “Structure and Function of Bacterial Nitric Oxide Reductases” Chapter 15 of RSC Metallobiology Series No. 13, Dioxygen-dependent Heme Enzymes, Eds by M. Ikeda-Saito and E. L. Raven, The Royal Society of Chemistry, 2018, pp. 334-350, doi: 10.1039/9781788012911-00334
- ② H. Sawai, Y. Shiro.: “Heme-Based Sensors of Dioxygen” Chapter 3 of RSC Metallobiology Series No. 12, Gas Sensing in Cells, Ed. by S. Aono, The Royal Society of Chemistry, 2017, pp. 47-83, doi: 10.1039/9781788012836
- ③ T. Tosha, Y. Shiro.: “Structure and Function of Nitric Oxide Reductases” Chapter 6 of RSC Metallobiology Series No. 9, Metalloenzymes in Denitrification: Applications and Environmental Impacts, Eds by I. Moura, J. G. Moura, S. R. Pauleta and L. B. Maia, The Royal Society of Chemistry, 2016, pp.114-140 doi: 10.1039/9781782623762-00114.
- ④ 藤井 浩、城 宜嗣: “鉄タンパク質・酵素の構造と機能” 「鉄の事典」朝倉書店 (2014)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

共に、特になし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：澤井 仁美

ローマ字氏名：SAWAI, Hitomi

所属研究機関名：兵庫県立大 大学院

部局名：生命理学研究科

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：50584851

研究分担者氏名：杉田 有治

ローマ字氏名：SUGITA, Yuji

所属研究機関名：国立研究開発法人理化学研究所

部局名：杉田理論分子科学研究室

職名：主任研究員

研究者番号 (8 桁)：80311190

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：杉本 宏

ローマ字氏名：SUGIMOTO, Hiroshi

研究協力者氏名：當舎 武彦

ローマ字氏名：TOSHA, Takehiko

研究協力者氏名：中村 寛夫

ローマ字氏名：NAKAMURA, Hiro

研究協力者氏名：久野 玉雄

ローマ字氏名：HISANO, Tamao

研究協力者氏名：久保 稔

ローマ字氏名：KUBO, Minoru

研究協力者氏名：八木 清

ローマ字氏名：YAGI, Kiyoshi

※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。