

緑膿菌由来一酸化窒素還元酵素の触媒反応機構の解明

～時間分解分光法を用いた酵素反応の追跡～

生命科学研究科 生命科学専攻

教授 しろ よしつぐ 城 宜嗣 ◎D2 たけだ はなえ 武田英恵

キーワード

病原菌、金属酵素、膜タンパク質、酵素反応、ヘム
分光測定、赤外吸収分光、可視吸収分光

研究概要

日和見感染症（院内感染症）の原因菌である緑膿菌は、ヒトなどに感染した際に免疫系や薬剤から身を守るためのバイオフィーム内などの酸素が少ない条件下で生育するために、硝酸イオン（ NO_3^- ）を用いた「脱窒」と呼ばれる嫌気呼吸を行なっている。脱窒とは、硝酸イオンを窒素分子にまで順次還元する反応である（ $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$ ）。脱窒過程

で生成される一酸化窒素（NO）は高い細胞毒性を示すために、速やかに除去しなければ細胞内に蓄積し、緑膿菌は死滅してしまう。しかし、緑膿菌は細胞膜に発現する一酸化窒素還元酵素（NOR）によりNOを速やか（数ミリ秒以内）に還元・無毒化できるため死滅することはない。つまり、NORの機能を阻害することができれば、緑膿菌の増殖を抑制することができる。我々はNORの阻害剤開発の基礎研究として、2010年にその立体構造をX線結晶構造解析により明らかにした[Hino, T. et al. (2010) *Science* **330**, 1666-1670]。立体構造から、NORはヘム（ポルフィリン鉄錯体）および非ヘム鉄により構成された触媒部位においてNO還元反応（ $2\text{NO} + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{N}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$ ）を触媒することは分かっているが、詳細な反応機構は明らかにされていない。NO還元反応はミリ秒以内に完結してしまうため、これまで酵素反応を追跡することは困難であった。そこで本研究では、このような速い酵素反応をリアルタイムで追跡できる時間分解分光装置を構築し、反応過程を直接観測することでNO還元反応機構の解明に取り組んでいる。

アピールポイント

NORは緑膿菌だけでなく、髄膜炎菌など重篤な症状を引き起こす病原菌なども有している。病原菌がヒトに感染する際、ヒトは免疫応答として病原菌を殺菌するために、マクロファージ内でNOを生産することが知られている。しかし、NORを有する病原菌はNOを無毒化できてしまうため、感染を防ぐことはできない。我々のNO還元反応の研究は、このような病原菌に対する抗菌剤開発の重要な基礎研究となり、医学分野への応用が期待される。さらに、本研究で使用する時間分解分光装置は、NOR反応のような速い酵素反応を追跡するために開発したものであり、NOR以外の酵素反応の追跡にも適用可能である。分光学的手法による酵素反応の解明は、タンパク質の構造機能相関を理解するためにも大変有用な手段であると言える。

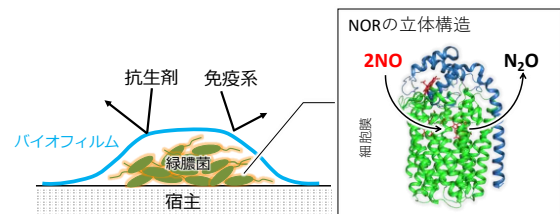


図. 左：緑膿菌は宿主に感染する際にバイオフィームを形成する。右：NORの立体構造。

