マテリアル先端リサーチインフラ利用報告書
ARIM User's Report

【Release：2025.07.16】　【Update：2025.07.16】

課題データ / Project Data

課題番号 Project Issue Number	22MS1003
利用課題名 Title	人工ニッケルキラターゼへの部位特異的変異によるタンパク質立体構造と触媒機能の関連の調査
利用した実施機関 Support Institute	自然科学研究機構 分子科学研究所 / IMS
機関外・機関内の利用 External or Internal Use	外部利用/External Use
ARIM半導体基盤PF関連課題 Related to ARIM-SETI	指定なし / No Designation
横断技術領域 Cross-Technology Area	物質・材料合成プロセス/Molecule & Material Synthesis 計測・分析/Advanced Characterization
重要技術領域 Important Technology Area	マテリアルの高度循環のための技術/Advanced materials recycling technologies 次世代バイオマテリアル/Next-generation biomaterials
キーワード Keywords	キラターゼ, ニッケル, ポルフィリン, 触媒, 人工酵素

利用者と利用形態 / User and Support Type

利用者名（課題申請者） User Name (Project Applicant)	藤城 貴史
所属名 Affiliation	埼玉大学理工学研究科生命科学部門分子生物学領域
共同利用者氏名 Names of Collaborators Excluding Supporters in the Hub and Spoke Institutes	
ARIM実施機関支援担当者 Names of Supporters in the Hub and Spoke Institutes	賣市 幹大,藤川 清江
利用形態 Support Type	機器利用/Equipment Utilization

利用した主な設備 / Equipment Used in This Project

利用した主な設備 Equipment ID & Name	MS-230：円二色性分散

報告書データ / Report

概要（目的・用途・実施内容） Abstract (Aim, Use Applications and Contents)	キラターゼはポルフィリン類に２価金属イオンを挿入する酵素であり、それぞれのキラターゼ酵素に置いて、利用可能な金属イオンには選択性がある。そのうち、ニッケルを利用するキラターゼは唯一古細菌のCfbAが知られているが、なぜCfbAのみニッケルイオンを使えるのか、その構造基盤はほとんど明らかとなっていない。そこで、本研究では、本来ニッケルを使えないSirBキラターゼに、CfbAの活性部位を模倣した変異を導入することで、ニッケルを利用可能な人工キラターゼを作成できるかどうか検討し、ニッケル利用のための構造基盤について明らかとすることを目指した。その研究における重要な点として、作成したSirB変異型が変性状態でないかどうかを調べる必要があり、今回、CDスペクトル測定による立体構造の安定性と活性の関連性について評価した。
実験 Experimental	精製したSirB変異型を50mMリン酸ナトリウム緩衝液に様々な濃度で調製し、1cm光路長の石英角形セル、200-350 nmの領域で、温度を20℃または25℃に設定し、CDスペクトルを測定した。
結果と考察 Results and Discussion	単変異型の２種のSirB変異型は、どちらもSirB野生型とほぼ同じCDスペクトルを示し、変性していないことを確認した。これに対し、単変異型の変異を同時に導入した二重変異型のSirB変異型は、野生型と異なるCDスペクトルを示し、部分的に構造変異が起きていることが示唆された。
図・表・数式 Figures, Tables and Equations	
その他・特記事項（参考文献・謝辞等） Remarks(References and Acknowledgements)	

成果発表・成果利用 / Publication and Patents

DOI（論文・プロシーディング） DOI (Publication and Proceedings)	
口頭発表、ポスター発表および、その他の論文[1] Oral Presentations etc.	藤城貴史、小山田勇真、小川翔子「基質選択性の改変に向けた鉄キラターゼSirBの活性部位の分子設計」、第９５回日本生化学会大会 2022年11/9-11/11, 11/9ポスター発表、名古屋国際会議場
特許出願件数 Number of Patent Applications	0件
特許登録件数 Number of Registered Patents	0件