

PAPER DETAILS

TITLE: Karboksidotrofik Mikroorganizmalarin Karbonmonoksit Dehidrojenazlari

AUTHORS: Melis OKDINLEYEN,Bilge Hilal ÇADIRCI EFELI

PAGES: 18-30

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2039560>

Karboksidotrofik Mikroorganizmaların Karbonmonoksit Dehidrojenazları

Melis ÇOKDİNLEYEN¹ , Bilge Hilal ÇADIRCI EFELİ^{2*} 

¹ Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Departmanı, İzmir

^{2*} Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Biyomühendislik Departmanı, Tokat

ÖZ

Endüstriyel gazlar içerisinde salınan ve kömür gibi yakıtların yanmasıyla açığa çıkan karbonmonoksitin (CO), ilerleyen sanayi ile birlikte çevre kirleticisi olarak doğada konsantrasyonu artmakta ve insanoğlunun sağlığını tehdit etmektedir. Bununla birlikte, yaşamın doğal dengesi içerisinde karboksidotrofik mikroorganizmalar, sahip oldukları karbonmonoksit dehidrojenaz (CODH) enzimleri ile, CO'ı karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmaktadırlar. Gerek aerobik gerekse anaerobik koşullarda yaşam formları gösteren bu mikroorganizmalar, çok farklı kofaktörlere sahip çeşitli CODH enzimleri ile yüksek ölçüde toksik CO'ın karbondioksit (CO₂) dönüşümünü katalizlerler. Böylece, enerji zengini bileşiklerin oluşturulmasında ve küresel karbon döngüsünde karbonun çevreye katılmasıyla önemli potansiyel etkiye sahiptirler. Enzim katalizlediği reaksiyon nedeniyle biyoteknoloji için büyük bir potansiyel sunmaktadır. CO dehidrojenazın kullanılacağı tasarımlar ile, biyosensörlerde CO tabanlı problemler veya yakıt hücreleri üretilebilir. Bu derlemede endüstriyel olarak oldukça öneme sahip olan CO dehidrojenazlar hakkında bilgi sunulması amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Karboksidotrofik mikroorganizmalar, Karbon monoksit dehidrojenaz, *Morella thermoacetica*

Carbon Monoxide Dehydrogenases from Carboxidotrophic Microorganisms

ABSTRACT

Carbon monoxide (CO), released in industrial gases and released by the burning of fuels such as coal, increases its concentration in nature as an environmental pollutant with the advancing industry and threatens human health. However, in the natural balance of life, carboxidotrophic microorganisms use CO as a carbon and energy source with their carbon monoxide dehydrogenase (CODH) enzymes. These microorganisms, which show life forms in both aerobic and anaerobic conditions, catalyze the conversion of highly toxic CO to CO₂ (carbon dioxide) with various CODH enzymes with very different cofactors. Thus, they have significant potential impact in the creation of energy-rich compounds and the incorporation of carbon into the environment in the global carbon cycle. It offers great potential for biotechnology due to the enzyme catalyzed reaction. With designs using CO dehydrogenase, CO-based probes or fuel cells can be produced in biosensors. In this review, it is aimed to present information about the industrially important CO dehydrogenases.

Keywords: Carboxidotrophic microorganisms, Carbon monoxide dehydrogenase, *Morella thermoacetica*

* Corresponding Author's email: bilgehilal.cadirci@gop.edu.tr

1. Giriş

Karbon monoksit (CO), benzin, odun, propan, odun kömürü veya diğer yakıtların yakılmasıyla üretilen renksiz, kokusuz, tatsız bir gazdır. CO endojen veya ekzojen kaynaklı olabilir. Sağlıklı bir bireyde endojen CO₂'nin ana kaynağı, hem oksijenaz tarafından heme'nin bozunmasından kaynaklanır. CO ekzojen olarak, araçların çalıştırılması, ısınma, kömür enerjisi üretimi ve biyokütle yakma işlemlerinde karşılaşılan eksik yanmanın bir ürünüdür. Volkanik patlamalar, doğal gazların emisyonu, bitki örtüsü ve hayvanların bozulması ve orman yangınları gibi doğal coğrafi olayların tümü, atmosferik CO₂'ye katkıda bulunur. Küresel CO₂'nin yaklaşık% 40'ı bu doğal kaynaklardan gelir. Fosil yakıt tüketimi, çöp atma, tütün dumanı ve odun kömürü yangınları gibi insan müdahalesi, küresel CO₂'nin kalan% 60'ına katkıda bulunur [1].

CO düzeyleri farklı yerlerde önemli ölçüde değişmektedir. Kömür madenleri, ulaştırma, kanalizasyon arıtma vb. kapalı ortamlarda çalışanlar artan CO'ye maruz kalabilirler ve 100 ppm'den fazla CO'ye maruz kalma insan sağlığı için tehlike arz etmektedir [2].

Doğada, karbon fiksasyonunun bilinen altı yolu vardır [3]. Anaerobik koşullar altında, Wood–Ljungdahl yolu baskındır. Bu yolun anahtar enzimleri CO dehidrojenaz (CODH) ve asetil-CoA sentaz (ACS)'dır [4] ve atmosferik CO konsantrasyonunun güvenli bir seviyede tutulmasında önemli bir rol oynamaktadırlar [2].

2. Karbondioksit Oksidasyonunu Katalizleyen Enzimler (CODH, ACS, CODH / ACS)

CO oksidasyonu katalizleyen ve asetil-CoA sentezini katalizleyen enzimler toplu halde "karbon monoksit dehidrojenaz" (CODHs) olarak adlandırılır. Bu çeşitli nedenlerden dolayı problemlidir. Bu enzimler temelde tersinir olarak iki elektron redoks reaksiyonu($\text{CO} + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$) katalizlese de [5], CO oksidasyonu ve asetil-CoA sentezi karakter olarak tamamen farklıdır ve Uluslararası Enzim Komisyon Sınıflandırma Düzenlemesine göre sırasıyla oksidoredüktaz (EC 1.2.xx) ve liyaz (EC 4.2.xx) olarak ayrı kategorilerde yer almaktadırlar. Buna ek olarak, bazı CODH'lar ACS etkinliği içermezken bazıları CODH'ın yokluğunda ACS'ı ifadeleyebilir. Her aktivite için CODH, Akseptor oksidoredüktaz, CO oksidaz ve CO₂ redüktaz gibi çeşitli adı vardır. Karışıklığı önlemek için Uluslararası Enzim Komisyonu Sınıflandırma Düzeni ile uygun olan enzim adını kullanmak önemlidir [4].

2.1. CO Oksidasyon katalizörleri-CODH'lar

CODH'ın Mo-CODH, Ni CODH ve Ni-CODH/ACS olmak üzere üç sınıfı vardır.

Mo-CODH

CO₂/CO çifti için orta indirgeme potansiyeline (-558 mV, pH 7.0) sahip olmasına rağmen çok negatiftir. Mo-CODH için en iyi elektron alımı +0.011 V ile 0.043 V arasındaki orta potansiyeldir. Ayrıca karboksidotroflardan gelen CODH'lar bilinen tüm Mo hidroksilazlarla ilişkili bir aktiviteye sahip NADH'ı oksitleyebilir. Ni içeren CODH'ların aksine, Mo enzimler oksijene duyarlı değildir (Ragsdale, 2004). *Oligotropha carboxydovorans*'dan gelen mezofilik enzim ve *O. thermocarboxydovorans*'dan gelen termofilik enzim benzer molekül ağırlığına (230,000–310,000) ve yapıya ($\alpha\beta\gamma$) 2 sahiptir [6]. Karboksidotrofik CODH, klonlanmış ve dizilenmiş plazmid kaynaklı genler tarafından kodlanır. Aktif sitesi molybdopterin sitozin dinükleotide(MCD) bağlı bir Cu içerir [7,8]. Bu CODH'lar, elektron transferindeki katalitik Mo-pterin merkezine katılan ve [2Fe-2S] [9] merkezleri olarak bulunan 2 mol FAD, 8 Fe ve 8 sülfid içermektedir [10]. Molibdenin aktif sitede CO bağladığının kanıtı, metanol ile enzim aktivasyonunun inhibisyonuna dayanmaktadır. CO üzerinde büyüme için Mo gereklidir fakat

heterotrofik büyüme ve Mo antagonisti, tungsat ile CO-bağımlı büyümenin engellenmesi için gerekli değildir [7].

Ni-CODH

Anaerobik nikel taşıyan CODHlar (Ni-CODH), anaerobik mikroorganizmalarda CO ve CO₂'in tersinir dönüşümünü katalizleyen, CO₂ fiksasyonu ve enerji korunumundan sorumlu multi-enzim kompleksleridir [11].

Rhodospirillum rubrum, *Carboxydotherrmus hydrogenoformans*, ve *Morella thermoacetica* türlerine ait CODH'lar en yaygın olarak çalışılanlardır ve yapıları, bu proteinlerin her biri için bilinmektedir. Bu üç enzimin yapıları çok benzerdir ve tüm liganlar aktif sitededir. Bunun yanı sıra bazı kalıntıların asit-baz kimyası kolaylaştırmak için aktif sitede muhafaza edildiği ileri sürülmüştür. *R. rubrum* ve *C. hydrogenoformans* CODH'larının ACS alt birimine sahip olmayışı sadece CODH'a odaklanmayı sağlar. Buna ek olarak *R. rubrum* için Ni-eksik bir protein holoenzim halinde izole edilen Fe siteleri içermektedir [12]. M-CO üzerine M-OH'ın saldırısı ile bir metale-bağlanmış karbonil, bir metal bağlı hidroksit iyonu ve bir metal karboksilat oluşturulan önemli ortak ara ürünleri vardır.

CODH mekanizmasında, metal merkezinin iki elektron ile indirgendiği ileri sürülmüştür. Ancak CODH'lar, bir metal hidrür ile zayıf bir CO-bağımlı hidrojen gelişim aktivitesine sahiptir. Ne olursa olsun, CODH mekanizması arasındaki temel fark, enzim içinde dış elektron taşıyıcıları bağlayan site ve C kümesi arasında elektron alıcısı olarak B ve D kümelerinin yerleşimi nedeniyle elektron transferinin çok hızlı olmasıdır [13-15].

Ni-CODH/ACS

CODH'ın X-ışını kristal yapısı beş metal küme (B, C, ve D kümeleri) içeren mantar şeklindeki homodimerik bir enzimi ortaya koymaktadır. Bu iki fonksiyonlu enzimde CODH alt birimleri CO oksidasyonunun (C-kümesi) ve redoks merkezlerinin (B ve D kümeleri) katalitik sitesini içermektedir. ACS alt birimini içeren bölgeler vardır [16] ve yüzeyin 18 °A altında gömülü her bir CODH altbirimi içeriği Ni-4Fe-5S (veya Ni-4Fe-4S) olan C-kümesidir. Bu C-kümesi aynı zamanda bir heterobinukleer NiFe kümeyle bağlantılı [3Fe-4S] kümesi olarak da görülebilir. Dört şeritli bir paralel β-tabaka ile α-heliksler C-kümesinin bağlanması için yapısal motiflerdir [17]. Bu kümelerde protein ligandlar iki β şeritin arasında konumlanmış halkalar halinde bulunur. Sadece C-kümesindeki Ni merkezi üzerinde Ni merkezine CO sağladığı düşünülen hidrofobik kanal vardır ve çözücü bir kanal diğer substratlara 40'ın üzerinde su molekülü sağlamak için su içermektedir [18].

CO oksidasyonu sırasında üretilen elektronlar B- ve D-kümelerinden oluşan bir tele aktarılır. Her CODH altbirimi bir B-kümesi ve D-kümesi içerirken nitrojenazın demir proteinindeki FeS kümesine benzer iki CODH alt birimi tarafından ortak kullanılır. Bu, C ve D kümeleri arasındaki elektron transferine aracılık etmek için yerleştirilen bitişik alt birimin B-kümesidir. Moleküler yüzeye yakın olan D kümesi muhtemelen CODH ve terminal elektron alıcısı (ferrodoksin, flavodoksin, vs.) arasında elektron transferine aracılık etmektedir. Elektron alıcıları hücresel prosesleri gerektiren diğer enerji çiftlerine indirgenmektedir [19].

Reaksiyonların aynı sırası, asetil-CoA'yı CO₂'e dönüştürme fonksiyonları olan CODH/ACS'da ters çalıştığı anlaşılmıştır. Burada CODH fonksiyonları su protonundan ve CO₂'den CO üretmek içindir. Ancak, *M. thermoacetica*, *R. rubrum* ve *C. hydrogenoformans* gelen CODH alt birimlerinin alfa karbon omurgası 0.8-1.0 °A ortalama bir kare kök sapmayla CODH'daki iki anahtar değişikliğini proteinlerin CODH/ACS sınıfında meydana getirmektedir [4].

CO'nın metal atomlarına karşı özel afinitesi, metalloproteinleri bir numaralı inhibitör yapar ve tüm CO sensörleri de bu metalleri içerir. Şimdiye kadar açıklanan tüm CO sensörleri Hem'de bulunan spesifik metal merkezine dayanır ve fakat metal sülfür merkezli sensörler henüz bulunamamıştır. Oksijen için FNR [20] ve SoxR [21] gibi, Hidrojen için HoxAJ [22] gibi, NO için NnrR [23] gibi Hem içermeyen sensörler tespit edilmiştir [24].

Hem içeren CO sensörlerinin olması şaşırtıcı değildir çünkü CO neredeyse tüm hem içeren proteinlere bağlanabilmektedir. Bu özelliğin anlamı, diğer belirgin fizyolojik gaz ligandlara sahip oldukları bilinse bile tüm hem içeren proteinlerin biyolojik olarak CO sensör adayı olduğudur [25].

CODH'ların bu çeşitliliği, mikroorganizma kaynaklarından da bahsetmeyi gerektirmektedir. Asetil-CoA sentetaz/CODH'lar, kemoototrofik olarak büyüeyebilen ve karbon metabolizmasında kritik rol oynayan anaerobik arkelerde ve bakterilerde bulunmaktadır. Bu grubun en iyi çalışan enzimi homoasetojen *Moorella thermoacetica* (önceden *Clostridium thermoaceticum*)'dan gelmektedir [26].

3. Karbonmonoksiti Metabolize Edebilen Mikroorganizmalar

Çevrede mikroorganizmaların özel bir sınıfının varlığı (karboksidotroflar), atmosferde eser miktarda mevcut olan CO için sorumludur. Ortamdaki çeşitli bakteriler, büyüme için enerji ve karbon kaynağı olarak CO'ı ve CO₂'i kullanmayı sağlayan CODH enzimine sahiptir. Bu enzim yüksek ölçüde toksik CO'ı CO₂'e dönüştürmede kullanılabilir [2].

Karboksidotrofik Bakteriler

Karboksidotrofik bakteriler CO'ı CO₂'e oksitleme yeteneğine sahiptir. CO ve CO₂ arasındaki ara dönüşüm CODH enzimi ile katalize edilmektedir.



Karboksidotroflar CO'nın yüksek düzeylerinde (>100ppm) büyüeyebilirler. Mikroorganizmaların (aerob ve anaeroblar) iki ana grubu vardır ve bu nedenle bu mikroorganizmaların CODH enzimleri farklıdır. CODH enzimini taşımayan mikroorganizmalar CO veya CO₂ ve H₂'li ortamda büyüeyemezler [27].

Aerobik Karboksidotroflar

Karboksidotrofik bakteriler, temel olarak *Proteobacteria* ve *Firmicutes* cinsinden oluşan küçük ama çeşitli bir aerob grubu oluşturur. Bunlar nispeten düşük afiniteli CO alım sistemleri eksprese ederken, %1'den daha yüksek olduğu durumlarda CO'ı tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanırlar [28].

CO₂ Calvin-Benson-Basham yoluyla hücre karbonu olarak özümzenmektedir. Aerobik CO kullanıcıları CODH enzimini kullanarak CO'ı CO₂'ye oksitleyebilir. Bu mikroorganizmalar elektron transferini bir elektron taşıma zinciri yoluyla CO oksidasyonunu katalizleyen CODH'dan elde etmektedirler [29]. Çevredeki CO'nın detoksifikasyonda CODH'lar rol alır çünkü 0.6 uM'a kadar düşük Km değerleri ile izleme gazının alınması için yüksek eğilime sahiptirler [10]. Ancak turnover sayıları anaerobik Ni-CODH'larınkine göre neredeyse 1000 kat daha düşüktür [7]. Bunlar molybdopterin içerdiğinden Mo-CODH'lar olarak adlandırılır ve sülfat oksidaz ve ksantin oksidaz gibi birçok özelliklerini de Mo-hidroksilazlarla paylaşırlar. CO oksitleyenlerin çoğunluğu, yüksek sıcaklıklarda (50-120°C), hayatta kalma ve büyüme kapasitesine sahip termofillerdir. Sıcak iklimlerde özellikle volkanik patlamalarda CO seviyeleri yüksektir (0.6-5540 ppm) [30]. Termofilik ve aerobik karboksidotroflar arasından *Bacillus schlegelli*, 50°C'de CO üzerinde büyüeyemezken optimum 65 °C'de çok hızlı büyüeymektedir. Büyüme Molibden bağımlıdır ve CODH'ı da molibden hidroksilaz ailesine aittir [31].

Molibden hidroksilaz ailesine ait olan *Streptomyces thermoautotrophicus*, metanol ile CODH enziminin inaktivasyonunu sağlamaktadır ve CO üzerinde çoğalabilen bu mikroorganizma organik gübreden izole edilmektedir [32].

RubisCO döğüsü ve C1 asimilasyon yolu enzimleri bulunan *Mycobacterium*'un birkaç türü CODH aktivitesine sahiptir. *Mycobacterium* insanlarda ciddi hastalıklara neden olmaktadır. *Mycobacterium spp.*'nin çoğu karbon ve enerji kaynağı olarak CO ve metanol kullanarak büyüyebilir ve buna karşılık *M. tuberculosis* metanol kullanmaz. *M. tuberculosis*'in büyümesi için yararlı olduğu kanıtlanan solunum gazlarından CO (1-5 ppm) içermektedir. *Mycobacterium spp.* ayrıca CODH aktivitesi yanında NODH (nitrikoksit dehidrojenaz) aktivitesine de sahiptir [33].

CO yükseltgeyiciler aynı zamanda deniz habitatlarında da mevcuttur. CO'in en yüksek konsantrasyonu yüzey sularındadır fakat suda ışığın azalmasıyla konsantrasyon da azalır. Deniz *karboksidotrofik* mikroorganizmalarından aerobik ve gram negatif olan *Silicibacter pameroyi* enerji kaynağı olarak CO kullanır ve deniz sularında CO'in oksidasyonunu sağlar [27].

Bitki simbiyotik bakterileri (*Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*) ve *Rhizobiaese*'a ait diğer birçok bakteri türleri de CO oksitleme yeteneğine sahiptir. Gram negatif bir toprak bakterisi olan *Bradyrhizobium*, soya fasulyesi ile simbiyotik olarak yaşar ve baklagillerden simbiyoz sırasında azot bağlar. Bitki kökleri ve nodüllerinden üretilen CO CODH'ın yardımıyla baklagiller tarafından kullanılır. CO bulunması, bununla birlikte CO leghaemoglobin (legHb) olarak bağlanan nitrojenaz aktivitesini inhibe etmektedir. Bunun sonucunda legHb oksijen bağlanmasını önlemekte ve nitrojenaz aktivitesine müdahale etmektedir. Aerobik *karboksidotrofların* büyük bir grubu olan toprak CO oksidanları da bu kategoriye girmektedir [34].

Anaerobik Karboksidotroflar

Obligat anaeroblar CO₂ fiksasyonunda CO₂'in CO'e indirgenmesi için CODH kullanırlar. Termofiller (*Carboxydotherrmus hydrogenafomans*), ACS ile birlikte CODH içerirler. Metajonler(Arke) belli koşullar altında CO üretirken, katı bir anaerobik termofil olan *C. hydrogenafomans* CODH kullanarak CO'ı CO₂ ve H₂'ye dönüştürür. Bu türler arasındaki CO transferi mutualist bir ilişki örneğidir.

CO üzerinde çoğalabilen ve CO'ı metana dönüştüren *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, kanalizasyon atıklarından izole edilir. *Methanosarcina*, *Methanobacterium* ve *Methanobreuibacter* de CO'de büyüyebilir. Asetojenik bakteriler anaerob (*Morella thermoacetica*) CODH'a sahiptirler, asetat sentezi için Wood-Ljungdahl yolundaki enzimi kullanırlar. Oluşturulan asetat böcekler ve alt termitler tarafından kullanılır [35].

Moorella thermoacetica

Clostridium acetikum, 1981 yılında izole edilen ilk asetojenik bakteridir. *Morella thermoacetica*, *Thermoanaerobacteriaceae* ailesinden bir *Clostridium*'dur. *M. thermoacetica* çok yönlü bir hetotroftur [36].

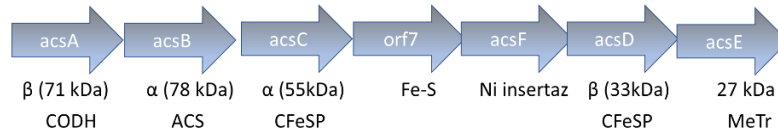
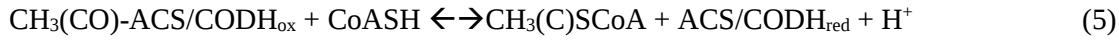
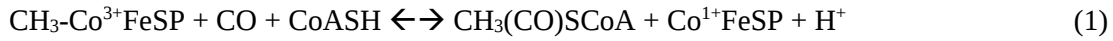
M. thermoacetica, karbondioksit eldesiyle ototrofik olarak asetat üretebilen bir asetojenik bakteridir. Asetojenesis asetil CoA yolu veya Wood-Ljungdahl yolu ile oluşturulabilir. *M. thermoacetica* çeşitli substratlar kullanan metabolik olarak en farklı asetojenlerden biridir. *M. thermoacetia*'nın asetil-CoA yolu çeşitli ortamlardaki karbon döngüsünde merkezi önem taşır. Doğada, *M. thermoacetica* durgun göletler altındaki topraklarda bulunur. *M. thermoacetica* periyodik termofilik sıcaklıklardaki topraklarda yaşar ve anaerobtur. Bu termofil bakteri 58 °C'de (140 °F); şekerler, iki karbonlu bileşikler (glioksilat, glikolat ve oksalat), laktat, pirüvat, kısa-zincirli yağ asitleri, metoksilli aromatik bileşiklerle ototrofik ve heterotrofik olarak büyüyebilir [37].

M. thermoacetica'nın tam genomu 2008'de dizilenmiştir. Tamamlandığında haritalanan ilk asetojen olmuştur. Genomu, %56'lık GC konsantrasyonuna sahip 2.628.784 baz çiftlik tek bir dairesel kromozomdan oluşmaktadır. Tahminen 2523 proteini kodlayan genin yüzde yetmişinin fonksiyonu bilinmektedir. 16S rRNA dizilerinin analizi asetojenesisin metabolik bir özellik olmasından ziyade filogenetik bir özellik olduğunu kanıtlamada önemlidir. *M. thermoacetica* hücreleri, gram-pozitif ve çubuk şeklindedir. Bunlar 0.4 ila 2.8 mikrometre arasında değişen hareketlilikten yoksun olan ve peritrichous kamçıya sahiptir. *M. thermoacetica* sporları küreseldir ve çoğunlukla alt terminalde sporangium içinde oluşturulmaktadır [38].

M. thermoacetica ve Karbonmonoksit Dehidrojenaz(CODH)

Wood-Ljungdahl ototrofik yolundaki enzimin (ACS/CODH $\equiv$ CODH/ACS) fonksiyonları reaksiyon-1'i katalizlemek (CO'dan Asetil-CoA sentezi) ve bir metil grubunu, corrinoid-demir-sülfür proteinden(CoFeS) aktarmaktır [26].

Metil grubunun kaynağı CH₃-THF'dir (THF=tetrahidrofolat) ve reaksiyon 2'de CoFeSP'nin indirgenmiş Co¹⁺ durumu üzerine aktarılır. CH₃-Co³⁺FeSP üzerindeki metil grubu ACS/CODH'ın indirgenmiş formuna aktarılabilir (reaksiyon-3). Asetil-CoA'da tutulan THF'ye bağlı metil grubunun sterokimyasal konfigürasyonu gibi olan N₂ mekanizmalarıyla metil transfer adımları gerçekleşir. Son bağlanan CoA olmasına rağmen, ilk bağlanan metil grubu ya da CO belli değildir[26].



Şekil 1. *M. thermoacetica* 'nın ACS operonu

ACS/CODH iki fonksiyonludur ve aynı zamanda CO₂'in CO'e indirgenmesini geri dönüşümlü olarak katalizler(reaksiyon-6). *M. thermoacetica*'nın ACS operonu Şekil 1'de gösterildiği gibidir. Enzim her bir β alt birimi CO/ CO₂ redoks katalizi için aktif site içeren bir α₂β₂ tetrameridir. Her alt birim aynı zamanda Fe₄S₄ kümesi içerir. Böylece başka bir küme α₂β₂ tetromerin 2 β alt birimi arasında köprü kurarken; bu kümeler, C kümesi ve dış redoks maddeleri arasındaki elektronların transferi için kullanılır. α alt birimi asetil-CoA sentezi için aktif A kümesi içerir. A kümesi de bir Fe₄S₄'e bağlanan [Ni_pNi_d] dimeri oluşturmada fonksiyon gösterir [26].

CODH'ın (β-alt birimi)

B-kümesi ve D kümesi, elektron transferini,

C-kümesi CO₂ + 2e⁻ + 2H⁺ ↔ CO + H₂O reaksiyonunu katalizler.

ACS'ın (α-altbirimi)

A kümesi $\text{CO} + \text{CFeSP-CH}_3 + \text{CoA} \leftrightarrow \text{asetil-CoA} + \text{CFeSP}$ reaksiyonunu katalizler.

M. thermoacetica'nın iki fonksiyonlu enzimi ACS/CODH'ın protein kristalografisi $\alpha_2\beta_2$ heterotetramerinin 310 kDa olduğunu göstermiştir. β -domainleri tek fonksiyonlu CODH'a benzer ve B, C ve D kümeleri içerir. Kompleksin her ucunda, ACS aktivitesinden sorumlu A kümesini içeren α domainleri vardır. Gazların hidrofobik kanalları diğer A ve C kümelerini bağlayan aktif bölgeden geçmektedir. *C. thermoacetum* CODH enziminin α alt birimi 729 aminoasitten oluşur ve molekül ağırlığı 81730 Da iken, β alt birimi 674 aminoasitten oluşur ve molekül ağırlığı 72.928 Da'dır [39]. Aktif bölgeyi içeren β alt birimi ise ACS etkileşim bölgesi, CODH etkileşim bölgesi ve Ni-Fe-S aktif bölgesini içerir.

Rhodospirillum rubrum

Fotosentetik bir anaerobik bakteri olan *R. rubrum*, CO'ı tek karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilir. CO'ı CO₂'e okside ederken CODH enzimini kullanır.

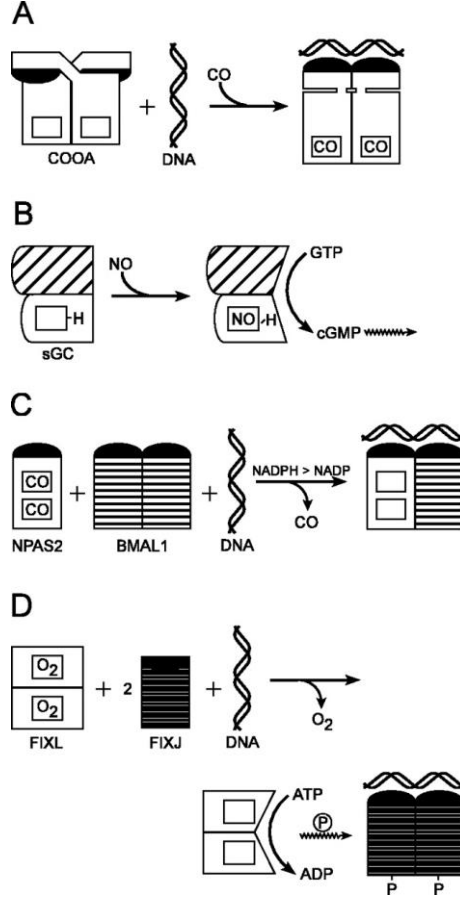
CooA, *Rhodospirillum rubrum*'dan elde edilmiş, hem grubu içeren bir karbonmonoksit duyarlı transkripsiyon faktörüdür. Coo, siklik adenozin mono fosfat (cAMP) reseptör proteini CRP/fumarat nitrat redüksiyon (FNR) ailesi bir transkripsiyon regülatörüdür. CooA, sadece CO sensörü için fizyolojik olarak uygundur ve diğer aday CO sensörleri başka hem-tabanlı sensörlerle benzer genel özelliklere sahiptir [40]. Bir grup hem-bazlı sensör proksimal bir ligand olarak histidin kullanır. Genellikle, bu Fe-His bağı rezonans Raman spektrumunda düşük Fe-His germe frekansı ile kanıtlandığı gibi zayıftır ancak bu zayıf bağı fonksiyonel rolü belirsizdir [41]. Öte yandan, her bir hem tabanlı sensör farklı küçük moleküllu ligandlar için özgüllüğü etkileyen özel bir hem ortamına sahiptir.

Hem-tabanlı sensörlerde ligand özgüllüğünün üç düzeyi vardır. Oksijenin karbonmonoksitten 20000 kat daha düşük doğal bir afiniteye sahip olması nedeniyle hem bazlı O₂ sensörleri için ilk önemli olan bağlanma seviyesidir. Hemoglobin ve miyoglobinde distal histidin yan zinciri ve O₂ ligand arasındaki H-bağı kullanılarak oran 200'den 25'e düşürülür [42]. Ligand spesifikliğin ikinci seviyesi ligand koordinasyon özelliğini içerir. NO sensörleri için bu seviye yararlıdır çünkü, NO'nun benzersiz, güçlü bir trans etkisi vardır. NO için çözünebilir guanilat siklazın seçiciliği (sGC) çok önemlidir. Üçüncü seçicilik seviyesi, sensör ligand bağlanmasına yanıt olan konformasyonel değişikliği temsil etmektedir (Şekil 2). Belirli bir sensör için, ligand özgüllüğü bu üç düzeyin bir kombinasyonu ile sağlanmaktadır [25].

Karbon ve enerji kaynağı olarak CO kullanan *R. rubrum*'un cooFSCTJ operonu (Şekil 3), ferrodoksin benzeri bir protein için gen (cooF), CODH (cooS) için yapısal gen, ve bir aksesuar proteini (cooCTJ) için gen içermektedir [43]. Mikroorganizmalar CO varlığını algıladığı zaman Coo genlerin ekspresyonu en az 1000 kat indüklenir [44]. Bir hidrojenaz ve proteinleri kodlayan coo gen kümesindeki ilk operon, CODH (cooS) ve bir membran-bağlantılı elektron transfer FeS proteini için genlerin ikinci operonunu oluşturan enzimin aktif formunu üretmeyi kapsar. Aynı zamanda en az üç diğer gendeki CooS'nin NiFeS aktif bölgesini üretmeyi kapsar. Pek çok çalışma, CooCTJ ürünlerinin olgunlaşma sırasında C-kümesi içine Ni yerleştirilmesine katıldığını göstermiştir [43]. CooC ureE'ye benzeyen bir Ni insertazdır ve ATP hidroliz ile enerji kullanarak Ni yerleştirilmesinde önemli bir yardımcı proteindir. CooJ da UreE'ye benzer ve en fazla dört Ni iyonu bağlayabilen His açısından zengin bir C-terminali içerir [45]. CooT'nin kesin rolü bilinmemektedir. Fakat Ni sağlamada C-kümesi olarak adlandırılan CO oksidasyonun aktif bölgesine dahil edilen diğer metallere yardımcı olduğu bulunmuştur [46].

CooA tespit edilen çeşitli gaz (O₂, CO, NO) sensörü proteinlerinden biridir [48]. CO, cAMP regülatör proteini (CRP) ve fumarat nitrat redüktaz regülatörü (FNR) içeren transkripsiyonel aktivatör ailesinin bir üyesi olan CooA'ya bağlı bir hem tarafından algılanır [49]. Bu proteinler bir N-terminal efektör bağlama alanı içermektedir. CooA'nın inaktif demir formundaki bir histidin kalıntısı (His77) ve amino

terminal prolini (Pro2) hem ligand olarak fonksiyon göstermektedir [50]. Sadece indirgenmiş CooA yapısı bilinmesine rağmen, spektroskopik çalışmalar ligand anahtarlarının karmaşık bir dizisini ortaya çıkarmıştır. CooA hemindeki eksenel ligandlar Pro2 ve His77 iken ferrik ligandlar Cys75 ve Pro2'dir [51, 52].



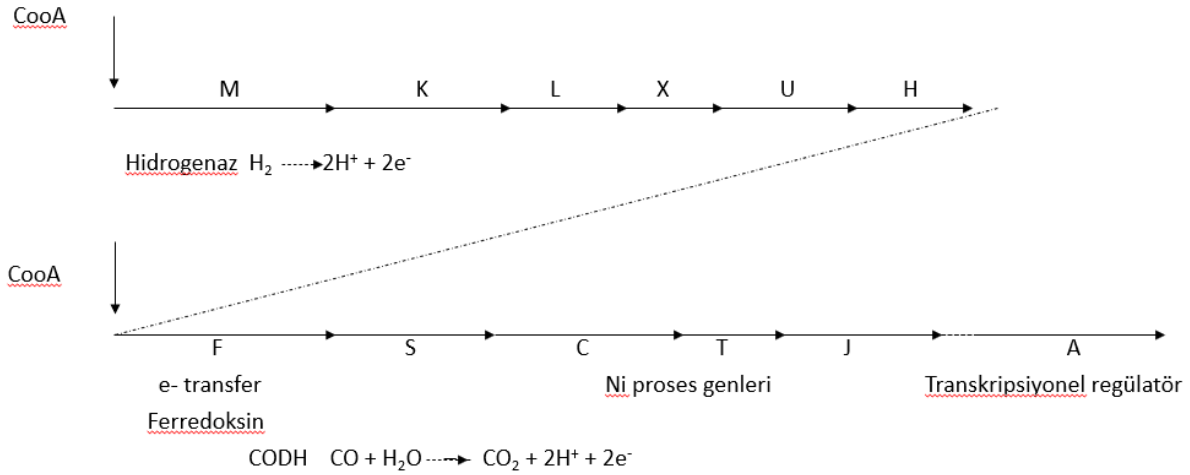
Şekil 2. CooA, sGC, NPAS, ve FixL nin efektörlerine karşı yanıtlarındaki genel davranışları.

(A) CO yokluğunda, CooA homodimeri DNA bağlayıcı yüzeylere (siyah gölgeli) sahiptir. Spesifik DNA dizilerini bağlamaya olanak sağlayan DNA-bağlanma yüzeylerinin her bir monomer kısmının CO bağlayıcı üzerindeki yeniden düzenlemesi önemlidir. DNA'ya bağlı CooA daha sonra gen transkripsiyonuna izin vermek için bir RNA polimerazı ile etkileşime girer.

(B) sGC NO olmadan inaktif bir heterodimer olarak bulunur. Hem bağlı NO, yapısal bir değişikliği tetikleyen endojen bir histidin ligandı(H) değiştirir. SGC'nin aktif konformasyonu önemli bir sinyal molekülü olan cGMP sentezler.

(C) NPAS2 yakın zamanda tanımlanmış fakat tam olarak anlaşılamamıştır. Hem bağlanan küçük moleküllerin varlığında, protein inaktif bir monomer olarak bulunmaktadır. Ama böyle küçük moleküllerin bulunmaması, DNA bağlama ve transkripsiyonu aktive eden BMAL1 gibi bir protein ile aktif bir heterodimer oluşumuna yol açmaktadır.

(D) FixL, hem O₂ bağlandığında inaktif bir homodimer olarak işlev görür. O₂ yokluğunda FixL, otofosforilasyona ve FixJ'ye bu fosfatın daha sonra transferine neden olan konformasyonel değişime uğrar. Fosforile FixJ DNA'ya bağlanır ve anaerobik olarak ifade edilen genlerin transkripsiyonunu aktive eder [25].



Şekil 3. Coo regulon. CO varlığında, CooA iki operonun transkripsiyonunu aktive etmek için promotora bağlanır. Operonlardan biri zara-bağlı bir hidrogenaz ile bunun yardımcı proteinlerini kodlarken diğer operon CODH ve bunun yardımcı proteinlerini kodlamaktadır [47].

CO, RNA polimeraz ve coo promotör bölge ile üretken bir kompleksin oluşumunu desteklemeye ve büyük bir yapısal yeniden düzenlenmeye neden olan prolin liganda bağlanır [49]. Mutagenез ile, CooA ve RNA polimeraz arasındaki etkileşimin siteleri haritalanmıştır [53]. CooA'daki anahtar bir bölge ve ilgili proteinler C-heliks olarak adlandırılan bağlı-DNA'yı ve efektör alanları birbirine bağlayan uzun bir helikstir (sarmaldır) ve dimer arayüzü olarak fonksiyon görmektedir [48].

Carboxydotherrnus hydrogenoformans

C. hydrogenoformans CO-kullanan termofilik anaerob bir bakteridir. *C. hydrogenoformans* genomu üzerindeki belirlenen (CODH-I-CODH-V) CODH'ları kodlayan beş gen içermektedir [54]. Enzimlerin çeşitli fonksiyonları, genlerine ve yapılan fizyolojik deneylere bağlı olarak ileri sürülmüştür [55]. Buna göre; CODH-I'in enerji tasarrufu, CODH-II'nin, NADH üretimi, CODH-III'ün, asetil KoA yolunda karbon fiksasyonu, CODH-IV'ün ise oksidatif stres yanıtı fonksiyonuna sahip olduğu bulunmuştur. CODH-V 'in fizyolojik işlevi bilinmeden kalmıştır. Fakat bazı hizalama analizlerinde korunan ligand Cys295'in CODH-V'de Glu ile yer değiştirdiği keşfedilmiştir [56]. CODH-I-V arasında, CODH-I ve CODH-II iyi karakterize edilmiş olanlardır. CODH-I ve CODH-II hemen hemen benzer özellikler gösterse de aralarındaki temel fark, CODH-II'nin CODH-I'den CO oksidasyonu için daha uygun olduğu gösteren CO ve CN- ile güçlü inhibisyonudur [57]. CODH-I, CO₂ foto-indirgeme sistemlerinde model katalizördür. Bir elektrot üzerine absorblanan CODH-I, CO₂'in ve CO'ın hızlı ve tersinir dönüşümünü katalizlemektedir [58]. İkinci fark, CODH-I'in TiO₂ ile etkileşebilen tek enzim olmasıdır. Bununla birlikte, CODH-I pratik ve tekrarlanabilir CO₂ azaltma sisteminin geliştirilmesinde kritik olan yüksek ekspresyon sistemlerinin oluşturulması için gereklidir. Ayrıca CODH-I, CooC homolog kodlayan bir geni (cooC3) içeren CODH / hidrogenaz gen kümesini oluşturmaktadır [59].

4. Sonuç ve Öneriler

Karbonmonoksit, kan hücrelerinde bulunan hemoglobin moleküllerinin içerisindeki hem grubu tarafından tutularak insanların oksijen yetersizliğinden zehirlenmelerinin en önemli sebeplerindendir. Bu derleme kapsamında endüstriyel olarak çok çeşitli alanlarda kullanılma potansiyeline sahip olan mikrobiyal karbonmonoksit dehidrojenazlar hakkında bilgiler verilmiştir. CODH enzimi, biyoteknoloji için büyük bir potansiyel sunmaktadır ve birçok endüstriyel uygulamada kullanılabilir. Örneğin biyosensörlerde CO tabanlı problemler, CO algılamaya yardımcı olabilecek şekilde tasarlanabilir [60]. Atmosferdeki CO'ı azaltmak için CO₂'in sentez gazlara ve alkanlara dönüşümünde kullanılabilir [2].

Özellikle tüberkülozlu hastalarda akciğer difüzyon kapasitesini ölçmek için kullanılabilir [61]. CO filtreler, sigara filtrelerinde CO₂'e dönüştürülerek CO'ı ayırmak için kullanılabilir [62]. Ancak günümüzde ticari olarak kullanıma henüz ulaşamamıştır.

Kaynaklar

- [1] Varma, D. R., Mulay, S., Chemtob, S. (2015). Carbon Monoxide: From Public Health Risk to Painless Killer, In: Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents (Second Edition), Ed(s): Gupta RC, Academic Press, P: 267-286.
- [2] Anand, A., Satyanarayana, T. (2012). Applicability of carboxydophilic bacterial carbonmonoxide dehydrogenase (CODH) in carbon sequestration and bioenergy generation. 381-384.
- [3] Adam, P. S., Borrel, G., Gribaldo, S. (2018). Evolutionary history of carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase, one of the oldest enzymatic complexes. *Proceedings of the National Academy of Science*. 115(6): E1166–E1173.
- [4] Ragsdale, S. W. (2004). Life with Carbon Monoxide. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 39:165–195.
- [5] Cao, Z. ve Mo, Y. (2007). Computational Characterization of the Elusive C-Cluster of Carbon Monoxide Dehydrogenase. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*, Vol. 7, No. 4, 473–484.
- [6] Meyer, O., Jacobitz, S., and Kruger, B. (1986). Biochemistry and physiology of aerobic carbon monoxide-utilizing bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 39:161–179.
- [7] Gnida, M., Ferner, R., Gremer, L., Meyer, O., and Meyer-Klaucke, W. (2003). A novel binuclear [CuSMo] cluster at the active site of carbon monoxide dehydrogenase: characterization by X-ray absorption spectroscopy. *Biochemistry* 42(1):222–230.
- [8] Johnson, J. L., Rajagopalan, K. V., and Meyer, O. (1990). Isolation and characterization of a second molybdopterin dinucleotide: molybdopterin cytosine dinucleotide. *Arch Biochem Biophys* 283:542–545.
- [9] Bray, R. C., George, G. N., Lange, R., and Meyer, O. (1983). Studies by e.p.r. spectroscopy of carbon monoxide oxidases from *Pseudomonas carboxydovorans* and *Pseudomonas carboxydohydrogena*. *Biochem J*. 211:687–694.
- [10] Meyer, O., Frunzke, K., and Morsdorf, G. (1993). Biochemistry of the aerobic utilization of carbon monoxide. In *Microbial growth on C1 compounds*, pp. 433–459. J.C. Murrell, and D.P. Kelly, Eds., Intercept, Ltd., Andover, MA.
- [11] Inoue, M., Nakamoto, I., Omae, K., Oguro, T., Ogata, H., Yoshida, T., and Sako, Y. (2019) Structural and Phylogenetic Diversity of Anaerobic Carbon-Monoxide Dehydrogenases. *Front. Microbiol.* 9:3353. doi: 10.3389/fmicb.2018.03353
- [12] Ensign, S. A., Bonam, D., and Ludden, P. W. (1989). Nickel is required for the transfer of electrons from carbon monoxide to the iron-sulfur center(s) of carbon monoxide dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *Biochem* 28(12):4968–4973.
- [13] Bhatnagar, L., Krzycki, J. A., and Zeikus, J. G. (1987). Analysis of hydrogen metabolism in *Methanosarcina barkeri*: regulation of hydrogenase and role of CO-dehydrogenase in H₂ production. *FEMS Microbiol Lett* 41:337–343.
- [14] Menon, S., and Ragsdale, S. W. (1996). Unleashing hydrogenase activity in pyruvate: ferredoxin oxidoreductase and acetyl-CoA synthase/CO dehydrogenase. *Biochemistry* 35(49):15814–15821.
- [15] Santiago, B., and Meyer, O. (1996). Characterization of hydrogenase activities associated with the molybdenum CO dehydrogenase from *Oligotropha carboxidovorans*. *FEMS Microbiol Lett* 136(2):157–162.
- [16] Darnault, C., Volbeda, A., Kim, E. J., Legrand, P., Venede, X., Lindahl, P. A., and Fontecilla-Camps, J. C. (2003). Ni-Zn-[Fe(4)-S(4)] and Ni-Ni-[Fe(4)-S(4)] clusters in closed and open alpha subunits of acetyl-CoA synthase/carbon monoxide dehydrogenase. *Nat Struct Biol* 10(4):271–279.
- [17] Dobbek, H., Svetlitchnyi, V., Gremer, L., Huber, R., and Meyer, O. (2001). Crystal structure of a carbon monoxide dehydrogenase reveals a [Ni-4Fe-5S] cluster. *Science* 293(5533):1281–1285.
- [18] Doukov, T. I., Iverson, T., Seravalli, J., Ragsdale, S. W., and Drennan, C. L. (2002). A Ni-Fe-Cu center in a bifunctional carbon monoxide dehydrogenase/acetyl-CoA synthase. *Science* 298(5593):567–572.

- [19] Drennan, C. L., Heo, J., Sintchak, M. D., Schreiter, E., and Ludden, P. W. (2001). Life on carbon monoxide: X-ray structure of *Rhodospirillum rubrum* Ni-Fe-S carbon monoxide dehydrogenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 98(21):11973–11978.
- [20] Kiley, P. J., and Beinert, H. (2003). The role of Fe-S proteins in sensing and regulation in bacteria. *Curr. Opin. Microbiol.* 6:181–185.
- [21] Pomposiello, P. J., and Demple, B. (2001). Redox-operated genetic switches: the SoxR and OxyR transcription factors. *Trends Biotechnol.* 19:109–114.
- [22] Bernhard, M., Buhrke, T., Bleijlevens, B., De Lacey, A. L., Fernandez, V. M., Albracht, S. P., and Friedrich, B. (2001). The H₂ sensor of *Ralstonia eutropha*. Biochemical characteristics, spectroscopic properties, and its interaction with a histidine protein kinase. *J. Biol. Chem.* 276:15592–15597.
- [23] Tosques, I. E., Shi, J., and Shapleigh, J. P. (1996). Cloning and characterization of *nnrR*, whose product is required for the expression of proteins involved in nitric oxide metabolism in *Rhodobacter sphaeroides* 2.4.3. *J. Bacteriol.* 178:4958–4964.
- [24] Zumft, W. G. (2002). Nitric oxide signaling and NO dependent transcriptional control in bacterial denitrification by members of the FNR-CRP regulatör family. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 4:277–286.
- [25] Roberts, G. P., Youn H., and Kerby, R. L. (2004). CO-Sensing Mechanisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68: 453–473.
- [26] Tan, X., Loke, H., Fitch, S., and Lindahl, P. A. (2005). The Tunnel of Acetyl-Coenzyme A Synthase/Carbon Monoxide Dehydrogenase Regulates Delivery of CO to the Active Site. *J. Am. Chem. Soc.* 127, 5833–5839.
- [27] King, G. M. and Weber C. F. (2007). Distribution, diversity and ecology of aerobic CO oxidising bacteria, *Nature Rev*, 5: 107–118.
- [28] King, G. M., (2003). Molecular and Culture-Based Analyses of Aerobic Carbon Monoxide Oxidizer Diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 69:12, 7257–7265.
- [29] Meyer, O., and Rhode, M. (1984). Enzymology and bioenergetics of carbon monoxide-oxidizing bacteria. In *Microbial growth on C1 compounds*, pp. 26–33. R.L. Crawford, and R.S. Hanson, Eds., American Society for Microbiology, Washington, DC.
- [30] Sokolova, T. G., Henstra, A. M., Sipma, J., Parshina, S. N., Stams, A. J. (2009). Diversity and eco-physiological features of thermophilic carboxydophilic anaerobes, *FEMS MicrobiolEcol*, 68: 131–141.
- [31] Krüger, B., and Meyer, O. (1984). Thermophilic Bacilli growing with carbon monoxide. *Arch. Microbiol.* 139, 402–408.
- [32] Bell, J. M., Falconer, C., Colby, J., and Williams, E. (1987). CO metabolism by a thermophilic actinomycetes *Streptomyces* strain G26, *J Gen Microbiol*, 133: 3445–3456.
- [33] Park, S. W., Song, T., Kim, S. Y., Oh, J. I., and Eom, C. Y. (2007). CODH in *Mycobacterium* possesses a NODH activity, *Biochem Biophys Res Commun*, 362: 449–453.
- [34] Lorite, M. J., Tachil, J., Sanjuan, J., Meyer, O., and Bedmar, E. J. (2000). CODH activity in *Bradyrhizobium japonicum*, *Appl Env Microbiol*, 66: 1871–1876.
- [35] Matson, E. G., Gora, K. G., and Leadbetter, J. R. (2011). Anaerobic CODH diversity in the homoacetogenic hindgut microbial communities of lower termites and wood roach, *PLOS one*, 6: 1–15.
- [36] Drake, H. L., and Daniel, S. L. (2004). Physiology of the thermophilic acetogen *Moorella thermoacetica*. *Research in Microbiology* 155: 869–883.
- [37] Jiang, B., Henstra, A. M., Paulo, P. L., Balk, M., Van Doesburg, W., and Stams, A. J. M. (2009). A typical one-carbon metabolism of an acetogenic and hydrogenogenic *Moorella thermoacetica* strain. *Archives of Microbiology* 191: 123–131.
- [38] Pierce, E., Xie, G., Barabote, R. D., Saunders, E., Han, C. S., Detter, J. C., Richardson, P., Brettin, T. S., Das, A., Ljungdahl, L. G. and Ragsdale, S. W. (2008). The complete genome sequence of *Moorella thermoacetica* (f. *Clostridium thermoaceticum*). *Environ Microbiol.* Oct;10(10):2550–73.
- [39] Doukov, T. I., Blasiak, L. C., Seravalli, J., Ragsdale, S. W., and Drennan, C. L. (2008). Xenon in and at the End of the Tunnel of Bifunctional Carbon Monoxide Dehydrogenase/Acetyl-CoA Synthase. *Biochemistry*, 47: 3474–3483.

- [40] Tomita, T., Gonzalez, G., Chang, A. L., Ikeda-Saito, M., and Gilles- Gonzalez, M. A. (2002). A comparative resonance Raman analysis of heme-binding PAS domains: heme iron coordination structures of the BjFixL, AxPDEA1, EcDos, and MtDos proteins. *Biochemistry* 41:4819–4826.
- [41] Uchida, T., Ishikawa, H., Ishimori, K., Morishima, I., Nakajima, H., Aono, S., Mizutani, Y., and Kitagawa, T. (2000). Identification of histidine 77 as the axial heme ligand of carbonmonoxy CooA by picosecond time-resolved resonance Raman spectroscopy. *Biochemistry* 39:12747–12752.
- [42] Spiro, T. G., and Jarzecki, A. A. (2001). Heme-based sensors: theoretical modeling of heme-ligand-protein interactions. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 5:715–723.
- [43] Jeon, W. B., Cheng, J., and Ludden, P. W. (2001). Purification and characterization of membrane-associated CooC protein and its functional role in the insertion of nickel into carbon monoxide dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *J Biol Chem* 276(42): 38602–38609.
- [44] Shelver, D., Kerby, R. L., He, Y. P., and Roberts, G. P. (1995). Carbonmonoxide-induced activation of gene expression in *Rhodospirillum rubrum* requires the product of *cooA*, a member of the cyclic AMP receptor protein family of transcriptional regulators. *J Bacteriol* 177(8): 2157–2163.
- [45] Watt, R. K. and Ludden, P. W. (1998). The identification, purification, and characterization of CooJ. A nickel-binding protein that is co-regulated with the Ni-containing CO dehydrogenase from *Rhodospirillum rubrum*. *J Biol Chem* 273(16):10019–10025.
- [46] Kerby, R. L., Ludden, P. W., and Roberts, G. P. (1997). In vivo nickel insertion into the carbon monoxide dehydrogenase of *Rhodospirillum rubrum*: molecular and physiological characterization of *cooCTJ*. *J Bacteriol* 179(7):2259–2266.
- [47] Watt, R. K. and Ludden, P. W. (1999). Nickel-binding proteins. *Cell Mol Life Sci* 56(7–8):604–625.
- [48] Dioum, E. M., Rutter, J., Tuckerman, J. R., Gonzalez, G., Gilles-Gonzalez, M. A., and McKnight, S. L. (2002). NPAS2: a gas-responsive transcription factor. *Science* 298(5602):2385–2387.
- [49] Aono, S. (2003). Biochemical and biophysical properties of the COsensing transcriptional activator CooA. *Acc Chem Res* 36:825–831.
- [50] Lanzilotta, W. N., Schuller, D. J., Thorsteinsson, M. V., Kerby, R. L., Roberts, G. P., and Poulos, T. L. (2000). Structure of the CO sensing transcription activator CooA. *Nat Struct Biol* 7:876–880.
- [51] Coyle, C. M., Puranik, M., Youn, H., Nielsen, S. B., Williams, R. D., Kerby, R. L., Roberts, G. P., and Spiro, T. G. (2003). Activation mechanism of the CO sensor CooA. Mutational and resonance Raman spectroscopic studies. *J Biol Chem* 278(37):35384–35393.
- [52] Yamamoto, K., Ishikawa, H., Takahashi, S., Ishimori, K., Morishima, I., Nakajima, H., and Aono, S. (2001). Binding of CO at the Pro2 side is crucial for the activation of CO-sensing transcriptional activator CooA. 1H NMR spectroscopic studies. *J Biol Chem* 276:11473–11476.
- [53] Leduc, J., Thorsteinsson, M. V., Gaal, T., and Roberts, G. P. (2001). Mapping CooA.RNAPolymerase interactions. Identification of activating regions 2 and 3 in CooA, the co-sensing transcriptional activator. *J Biol Chem* 276(43):39968–39973.
- [54] Wu, M., Ren, Q., Durkin, A. S., Daugherty, S. C., Brinkac, L. M., Dodson, R. J., Madupu, R., Sullivan, S. A., Kolonay, J. F., Haft, D. H., Nelson, W. C., Tallon, L. J., Jones, K. M., Ulrich, L. E., Gonzalez, J. M., Zhulin, I. B., Robband, F. T., and Eisen, J. A. (2005). Life in hot carbon monoxide: the complete genome sequence of *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* Z-2901, *PLoS Genet.* 1 0563–0574.
- [55] Techtmann, S. M., Colman, A. S., Murphy, M. B., Schackwitz, W. S., Goodwin, L. A., and Robb, F. T. (2011). Regulation of multiple carbon monoxide consumption pathways in anaerobic bacteria, *Front. Microbiol.* 2 1–12.
- [56] Lindahl, P. A., and Chang, B. (2001). The evolution of acetyl-CoA synthase, *Origins Life Evol. Biosphere* 31 403–434.
- [57] Wang, V. C., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2013). Investigations of two bidirectional carbon monoxide dehydrogenases from *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* by protein film electrochemistry. *ChemBioChem.* 14:1845–1851.
- [58] Parkin, A., Seravalli, J., Vincent, K. A., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2007). Rapid and efficient electrocatalytic CO₂/CO interconversions by *Carboxydotherrmus hydrogenoformans* CO dehydrogenase I on an electrode. *J. Am. Chem. Soc.* 129: 10328–10329.

- [59] Woolerton, T. W., Sheard, S., Reisner, E., Pierce, E., Ragsdale, S. W., and Armstrong, F. A. (2010). Efficient and clean photoreduction of CO₂ to CO by enzyme-modified TiO₂ nanoparticles using visible light. *J. Am. Chem. Soc.* 132:2132–2133.
- [60] Can, M., Armstrong, F. A., and Ragsdale, S. W. (2014). Structure, Function, and Mechanism of the Nickel Metalloenzymes, CO Dehydrogenase, and Acetyl-CoA Synthase.
- [61] Maiga, M., Choi, S. W., Atudorei, V., Sharp, Z. D., Bishai, W. R., and Timmins, G. S. (2014). In Vitro and In Vivo Studies of a Rapid and Selective Breath Test for Tuberculosis Based upon Mycobacterial CO Dehydrogenase.
- [62] Quiza, L., Lalande, I., Guertin, C., and Constant, P. (2014). Land-use influences the distribution and activity of high affinity CO-oxidizing bacteria associated type I-coxL genotype in soil.



© 2020 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).