

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（特設分野研究）

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0055

研究課題名（和文）酵素活性中心の構造変化とゆらぎにリンクする触媒反応遷移状態の制御機構

研究課題名（英文）Elucidation of enzyme catalytic mechanism regulating transition state by linking conformational change and fluctuations of the active site

研究代表者

岡島 俊英 (Okajima, Toshihide)

大阪大学・産業科学研究所・准教授

研究者番号：10247968

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,300,000円

研究成果の概要（和文）：銅アミン酸化酵素の中性子構造解析の結果、トパキノン（TPQ）補酵素のプロトン化状態から、通常のエノール型に加え、ケト型TPQが含まれていることがわかった。いずれもが平面性を失った歪んだ構造を取っていることも明らかとなった。また、反応中間体の構造変化に関して詳細なデータが得られた。本酵素の触媒反応過程において、活性中心構造の精密な変化あるいはゆらぎ、ゆらぎによって、反応促進、すなわち遷移状態のエネルギーの低減が図られていることを解明することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で決定されたアミン酸化酵素の中性子構造は、これまでに報告されている中で最大サイズのタンパク質であり、その新規な活性中心構造を含め、国際的にも高く評価された。また、酵素の触媒反応を加速化させる構造基盤の一端を解明に成功しており、酵素活性中心の動き、歪み、およびゆらぎが遷移状態の影響していることが判明した。その知見は有用酵素の改良にも役立つものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Neutron crystallography of copper amine oxidase revealed that the cofactor TPQ has both enolate and keto forms on the basis of its protonation state. It is clear that both forms had a distorted ring structure unlike a planar one that has been believed to be taken. The present study also provide detail information for structural changes of the catalytic intermediates during the catalytic cycle. Structural changes, distortion, and fluctuations of the active-site residues and cofactor can control energy level of transition state so that the rate of enzyme-catalyzed reaction is accelerated.

研究分野：生化学

キーワード：ゆらぎ 酵素 反応機構 遷移状態 中性子構造解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

酵素は常温常圧で各種の化学反応を極めて効率的に触媒する分子マシンである。一般に、酵素反応は多段階反応であり、各素反応に準安定な中間体状態と高エネルギーな遷移状態が存在するので、反応が完結するまでに複数の中間体と遷移状態を経由する。その過程で、基質結合部位の induced fit や各素反応に適した触媒部位環境の微調整、あるいは分子全体および局所的なゆらぎによって、電子・プロトンの移動や共有結合形成・切断などの化学反応の効率的な進行が達成されている。反応促進に特化した低分子触媒にはないタンパク質のもつ動的な特性が、化学反応の遷移状態の安定化、すなわち活性化エネルギーの低下による反応速度加速にどのように寄与しているかは、酵素触媒反応の分子メカニズムを本質的に解明するために重要である。動的特性の寄与は、酵素化学の研究分野において、近年、国内外の研究者から非常に注目されている(文献 1)。また、現実的には単離できない遷移状態を理解するためには、タンパク質の立体構造を基にした量子化学計算が必須であるが、近年の方法論の確立や計算速度の進歩によって、複数の遷移状態を予測することも可能になりつつある。しかし、信頼性の高い結果を得るためには、反応の初期状態のみではなく、反応ステップに対応する複数の中間的な構造において、その原子座標、ゆらぎなどの動的情報、およびプロトン化状況など様々な情報が得ることに加え、各種の実験データ(反応速度や立体構造)と理論計算結果を慎重に比較することが必須となる。

これまで研究代表者らは土壌細菌 *Arthrobacter globiformis* に由来した銅含有アミン酸化酵素(AGAO)の触媒機構について、詳細に研究してきた(文献 2-4)。本酵素は、酸化還元補酵素トパキノン(TPQ)および二価銅イオンを活性中心に含み、第一級アミン類の酸化的脱アミノ反応を触媒する。これまでに我々は AGAO において、ストップフローを用いた遷移相速度解析によって各反応ステップの速度定数を精密に決定するとともに、反応中間体の X 線結晶構造を組み合わせ、詳細な触媒機構の解析を行ってきた。本酵素の反応サイクルは、前半の還元的半反応と後半の酸化的半反応に分割され、その中で基質シッフ塩基におけるプロトン引き抜き機構(文献 3)、あるいは還元されたアミノレゾルシノー中間体 TPQ_{amr} から銅イオンへ電子が伝達されセミキノンラジカル中間体 TPQ_{sq} が形成される機構などを解明した(文献 4)。加えて、主要なすべての反応中間体の構造決定に成功しており、補酵素反応中間体は、銅イオンと直接的に相互作用せず、触媒塩基 Asp298 に近接するコンフォメーション(OFF-Cu)か、4-OH 基で銅イオンに直接配位するコンフォメーション(ON-Cu)のいずれかを取ることを示した。触媒塩基 Asp298 によるプロトンの授受を伴う反応ステップでは OFF-Cu を、補酵素から銅イオンを介し酸素分子へ電子の受け渡しを行う場合には、ON-Cu を取ることが明らかとなった(文献 4)。触媒反応サイクルの中で“産業用ロボット”のように、補酵素反応中間体が大きなコンフォメーション変化を伴い、2つの反応場を使い分けながら、電子とプロトンを効率的に授受し、触媒反応の進行を進めていく全体像が明らかとなった。

2. 研究の目的

このような、動きを伴う酵素触媒反応における遷移状態は、どのように達成されているのであろうか?例えば TPQ_{amr} から TPQ_{sq} の過程では、OFF-Cu から ON-Cu へのコンフォメーション変化と TPQ_{amr} から Cu²⁺への電子移動が起きる。実測された遅い速度定数に対して、ON-Cu では極めて速い電子移動が起こりうるので、比較的遅いコンフォメーション変化が先に起きて、その後電子移動が起きるものと推測された。細かく見ると、コンフォメーション変化と電子移動に対して、2つの遷移状態が存在することになる。また、活性中心のゆらぎも触媒反応では重要である。基質シッフ塩基中間体 TPQ_{ssb} から生成物シッフ塩基中間体 TPQ_{psb} へのステップでは、Asp298 のプロトン引き抜きがプロトントンネリングで起きることが判明している(文献 4)。AGAO を対象として、酵素構造の動きやゆらぎが遷移状態にどのように影響しているのか、あるいはリンクしているのかを理論的に解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

AGAO は大腸菌発現系を用いて、アポ型酵素として精製した。その後、好氣的条件下において、過剰量の銅イオンを添加し、自発的な酸化反応によって、銅および補酵素 TPQ を含まないホロ型酵素に変換した。すべての実験はホロ型酵素を用いて行った。結晶調製は透析法を用いて行った。結晶中における反応中間体の平衡状態の熱力学解析は、Humid Air and Glue-coating (HAG) method: HAG 法を用いて行った(文献 5)。同方法では、通常の凍結法と同様なループ上に結晶を乗せるが、ポリビニルアルコール (PVA) で結晶を包み、温度と湿度が調節された窒素ガスを吹きつけながら回折測定を行う。PVA が結晶と調湿ガス間で水分を緩やかに仲介することによって、結晶の乾燥が防がれ、また、結晶の温度も X 線回折データ測定時にも一定に保つことが可能となった。非凍結かつ一定温度においてデータ収集し、構造精密化計算などは常法通りに行った。

AGAO のプロトン化状態を実験的に決定するため、中性子結晶構造解析を行った(文献 6)。中性子結晶構造解析には、大型の高品質結晶が必要であるが、その調製は透析法を改良した吊り下げ法により行なった。得られた結晶の重水素化および抗凍結防止は、3 M 重水素化マロン酸溶液(pD7.4)に結晶を2週間程度浸漬して行った。中性子回折データの収集は、クライオ条件下大強度陽子加速器施設(J-PARC)の茨城県生命物質構造解析装置(iBIX)を用いて行った。同じ結晶を用いて得られた X 線回折データとの Joint Refinement によって、構造決定を行った。また、量子

化学計算は中性子構造解析によって得られた水素原子を含む全原子の座標を元に、Hybrid quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) 法によって行った。QM 領域には、活性中心の Tyr284、Asp298、Tyr384、Asn381、TPQ、His431、His433、His592、Cu²⁺ イオン、および4つの水分子を含め、密度汎関数法 (UB3LYP-D3/DZVP) によって、エネルギーレベルと構造計算を行った。MM 領域に関しては、Amberff99 を力場として用いた。

4. 研究成果

(1) 実験的に AGAO の水素原子座標を決定し、量子化学計算に用いるために、まず反応初期状態である酸化型酵素の中性子構造解析を行った(文献6)。酸化型酵素では、フルセットの中性子回折データの取得に成功した。同じ結晶から得られた X 線回折データとともに精密化し、1.72 Å の高分解能で構造決定することに成功した。トパキノ

(TPQ) 補酵素のプロトン化状態から、通常のエノール型に加え、ケト型 TPQ が含まれていることがわかった(図1)。ケト型 TPQ では、TPQ 環と NH- π 相互作用している Asn381 側鎖が Flipping しており、アミド基の向きに関して大きなゆらぎが存在していることがわかった(図1)。これは中性子構造における核密度マップからわかる水素原子位置からも明確であった。さらにエノール型およびケト型 TPQ のいずれもが平面性を失った歪んだ構造を取っていることも明らかとなった(図1)。局所的には不安定な補酵素構造であったが、この構造をもつ補酵素が開始状態を不安定化させ、その結果、活性化エネルギーが低下し、触媒反応の進行に寄与していることが予測された。基質アミンを結合したミカエリス複合体、あるいは初発の反応中間体である基質シッフ塩基中間体においては、この歪みは解消されることも予測された。すなわち、遷移状態を制御するひずみとゆらぎが、補酵素の反応初期構造に内包されていることを示すといえる。TPQ-C5 カルボニル基の酸素原子と触媒塩基 Asp298 の側鎖カルボニル基の2つの酸素原子の間に、宙に浮いたような特異なプロトンが存在し、合計3つの酸素原子間で非局在化していることがわかった。これにより Asp298 との間に強い水素結合が形成され、TPQ が引っ張られることにあることがわかった。この強い水素結合により、酸化型 TPQ の歪みが作り出されていると考えられた。

また、銅イオンに配位した His431 残基側鎖イミダゾール基についても、興味深いことがわかった(文献6)。すなわち、銅イオンに配位した3つの His 残基のうち、His431 のイミダゾール窒素に結合したプロトンの核密度が全く検出されず、anion 型を取っていると推測された。His 残基の2つ目のプロトン解離の pK_a は約 14 と極めて高く、通常、タンパク質内では anion 型は存在し得ない。おそらく、配位した銅イオンがイミダゾール環の電子を吸引し、それによって pK_a が著しく低下したと考えられた。このような金属イオンの効果は Metal-induced histidine deprotonation とよばれ、金属酵素の触媒機構の一つとして提案されてきた。しかし、赤外分光やラマン分光などで示唆するデータはあるが、あまり詳細な研究はされておらず、本研究が最初の構造的な知見となった。これらの活性中心に関する知見は中性子構造解析によって決定したプロトン化状態の解析によって、初めて見出されたことであり、国際的にも高く評価された。

(2) 量子化学計算においては、酸化型および各反応中間体におけるプロトン化状態を推定し、さらに QM/MM 計算によって、エネルギーレベルと最適化構造を得た。酸化型酵素では、その中性子構造において見出されたケト型 TPQ は、過剰にプロトン化された状態で形成されていることがわかった(文献6)。宙に浮いたプロトンは再現できなかったが、歪んだ TPQ 環の存在は再現でき、理論的に裏付けられた。また、アミノレゾルシノール中間体では自発的な銅イオンへの電子移動は起こらないことがわかった。この計算結果は、これまで想定していた通りに、コンフォメーション変化によって TPQ が銅イオンに接近することが必要なことを裏付けた。セミキノンラジカル中間体が生成するステップに関しては、変化の過程のエネルギープロファイルを詳細に解析した。その結果、まず TPQ リングが、OFF-Cu コンフォメーションの狭い領域において、C α -C β 結合の周りで 180° 回転し、その後、TPQ がスライドし C4-OH が銅イオンに配位するように構造変化することが予測された。これまでは OFF-Cu コンフォメーションからスライドする動きが先に起きるように推定していたが、今回、Asn381 側鎖のコンフォメーション変化が先に起きることによって、より低いエネルギー障壁でコンフォメーション変化が起きることが明らかとなった。このような動きは、Asn381 に関する変異型酵素の速度論的な解析結果とも矛盾

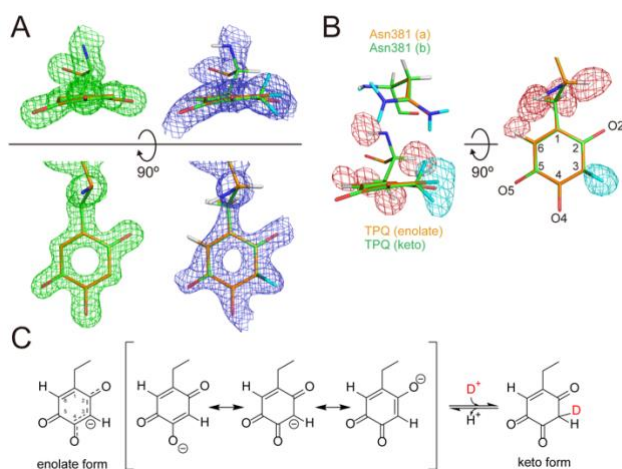


図1. 中性子構造解析によって決定された TPQ の構造。(A)TPQ の電子密度マップと核密度マップ。(B) TPQ に結合した軽水素および重水素原子のオミットマップと Asn381 側鎖の構造。(C) エノール型およびケト型 TPQ の相互変換。

しなかった。

(3) さらに、反応中間体の熱力学的解析を立体構造とリンクさせるため、結晶を基質ソーキングし、反応中間状態を作り出した後、HAG法により非凍結状態で構造解析を行った(文献5)。基質はエチルアミンを用いた結果、親和性が低い基質(すなわち、生成物も活性中心から速やかに排出されると期待される)であるため、構造解析の結果、基質ポケットに生成物アルデヒドは結合しておらず、TPQ_{amr}とTPQ_{sq}の平衡状態が一定の比率で共存することが観測された(図2)。溶液での測定と同様に、温度が上昇するに従ってTPQ_{amr}の割合が減少し、それに伴いTPQ_{sq}が増加した(図2)。この変化は結晶顕微分光スペクトルからも裏付けられた。この構造解析により得られた中間体の比率(TPQ_{sq}/TPQ_{amr})をvan't Hoffプロットし、TPQ_{sq}形成過程の熱力学的パラメータを求めた(図2)。その結果、溶液中

中($\Delta H^{\circ}_{\text{sol}} = 26 \text{ kJ/mol}$ 、 $\Delta S^{\circ}_{\text{sol}} = 83 \text{ J/mol/K}$)と結晶中($\Delta H^{\circ}_{\text{cryst}} = 38 \text{ kJ/mol}$ 、 $\Delta S^{\circ}_{\text{cryst}} = 139 \text{ J/mol/K}$)の両方とも、 ΔH° と ΔS° の両方が正の値であり、本過程が、エントロピー項に依存して進行することを示した(文献5)。OFF-Cu型のTPQ_{amr}の状態では、TPQ環がAsn381およびTyr384/Val282の側鎖に挟まれ、さらにTyr284との短い(強い)水素結合(約2.2 Å)があるため、動きが制限されている。一方、ON-Cu型のTPQ_{sq}では、Met602との弱い水素結合(約3.0 Å)はあるものの、TPQの芳香環の周囲には、回転するのに十分な空間があることに対応していると考えられた。つまり、TPQ_{sq}への構造変化の過程で消費される熱は、主にTPQ_{amr}とTyr284との強い水素結合の切断に使用され、エントロピーの増加は、TPQ環とTPQ_{amr}周辺残基の自由度の増加によるものと考えられた。これらの結果は、反応中間状態の構造変化を駆動する要因に関して、重要な情報を与えた。

以上の結果により、銅アミン酸化酵素の触媒反応過程において、活性中心構造の精密な変化あるいはひずみ、ゆらぎによって、反応促進、すなわち遷移状態のエネルギーの低減が図られていることを解明することができた。

<引用文献>

1. J. P. Klinman, A. Kohen, Hydrogen tunneling links protein dynamics to enzyme catalysis. *Annu. Rev. Biochem.*, 2013, 82, 471–496.
2. S. Kishishita, T. Okajima, M. Kim, H. Yamaguchi, S. Hirota, S. Suzuki, S. Kuroda, K. Tanizawa, and M. Mure, Role of copper ion in bacterial copper amine oxidase: Spectroscopic and crystallographic studies of metal-substituted enzymes. *J. Am. Chem. Soc.*, 2003, 125, 1041–1055.
3. T. Murakawa, A. Hamaguchi, S. Nakanishi, M. Kataoka, T. Nakai, Y. Kawano, H. Yamaguchi, H. Hayashi, K. Tanizawa, and T. Okajima, Probing the catalytic mechanism of copper amine oxidase from *Arthrobacter globiformis* with halide ions. *J. Biol. Chem.* 2015, 290, 23094–23109.
4. T. Murakawa, T. Okajima, S. Kuroda, M. Taki, Y. Yamamoto, H. Hayashi, and K. Tanizawa, Quantum mechanical hydrogen tunneling in bacterial copper amine oxidase reaction. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2006, 342, 414–423.
5. T. Murakawa, S. Baba, Y. Kawano, H. Hayashi, T. Yano, T. Kumasaka, M. Yamamoto, K. Tanizawa, T. Okajima, *In crystallo* thermodynamic analysis of conformational change of the topaquinone cofactor in bacterial copper amine oxidase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2019, 116, 135–140.
6. T. Murakawa, K. Kurihara, M. Shoji, C. Shibasaki, T. Sunami, T. Tamada, N. Yano, T. Yamada, K. Kusaka, M. Suzuki, Y. Shigeta, R. Kuroki, H. Hayashi, T. Yano, K. Tanizawa, M. Adachi, T. Okajima, Neutron crystallography of copper amine oxidase reveals keto/enolate interconversion of the quinone cofactor and unusual proton sharing. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2020, 117, 10818–10824.

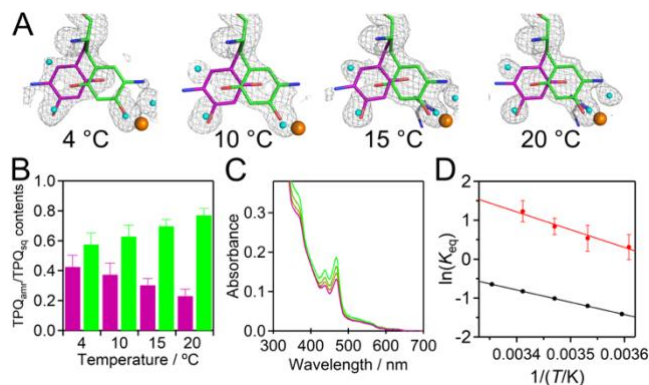


図2. エチルアミンによる AGAO 基質還元温度依存性。(A) HAG 法によって決定されたエチルアミンによるソーキング構造。TPQ_{amr}(緑)とTPQ_{sq}(紫)。(B) 専有率から決定された TPQ_{amr}(緑)とTPQ_{sq}(紫)の比率。(C) 結晶顕微分光スペクトルの温度依存性。(D) 溶液(黒)および結晶中(赤)におけるTPQ_{amr}とTPQ_{sq}変換反応のvan't Hoffプロット。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeshi Murakawa, Kazuo Kurihara, Mitsuo Shoji, Chie Shibasaki, Tomoko Sunami, Taro Tamada, Naomine Yano, Taro Yamada, Katsuhiro Kusaka, Mamoru Suzuki, Yasuteru Shigeta, Ryota Kuroki, Hideyuki Hayashi, Takato Yano, Katsuyuki Tanizawa, Motoyasu Adachi, Toshihide Okajima	4. 巻 117
2. 論文標題 Neutron crystallography of copper amine oxidase reveals keto/enolate interconversion of the quinone cofactor and unusual proton sharing.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 10818-10824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1922538117	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 村川武志, 馬場清喜, 岡島俊英	4. 巻 91
2. 論文標題 銅含有アミン酸化酵素触媒反応におけるコンフォメーション変化のin crystallo熱力学解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 565-571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.14952/SEIKAGAKU.2019.910565	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeshi Murakawa, Seiki Baba, Toshihide Okajima	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 In crystallo thermodynamic analysis of the catalytic reaction in bacterial copper amine oxidase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 SPRING-8/SACLA Research Frontiers	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Murakawa Takeshi, Baba Seiki, Kawano Yoshiaki, Hayashi Hideyuki, Yano Takato, Kumasaka Takashi, Yamamoto Masaki, Tanizawa Katsuyuki, Okajima Toshihide	4. 巻 116
2. 論文標題 In crystallo thermodynamic analysis of conformational change of the topaquinone cofactor in bacterial copper amine oxidase	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 135 ~ 140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1811837116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 村川武志, 馬場清喜, 岡島俊英	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 銅含有アミン酸化酵素触媒反応におけるコンフォメーション変化のin crystallo熱力学解析	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生化学	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Toshihide Okajima, Takeshi Murakawa, Seiki Baba, Satoshi Kanagawa, Hideyuki Hayashi, Takato Yano, Takashi Kumasaka, and Katsuyuki Tanizawa
2. 発表標題 Structural basis for conformational change of the topaquinone cofactor during the catalytic reaction of bacterial copper amine oxidase
3. 学会等名 33rd Annual Symposium of The Protein Society (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 酒井克輝、佐々木康、村川武志、谷澤克行、岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素のトパキノン補酵素合成反応における中間体形成の分光学的解析・速度論的解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 村川武志
2. 発表標題 銅含有アミン酸化酵素触媒機構の“in crystallo”熱力学的解析
3. 学会等名 第42回 SPring-8先端利用技術ワークショップ/大阪大学蛋白質研究所セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 金川哲士, 村川武志, 谷澤克行, 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の基質アミン複合体構造に基づく基質認識機構の解析
3. 学会等名 第18回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐々木康, 村川武志, 谷澤克行, 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の補酵素生成における初期反応中間体の解析
3. 学会等名 酵素補酵素研究会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 金川哲士, 村川武志, 谷澤克行, 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の基質アミン複合体構造に基づく基質認識機構及び基質特異性の改変
3. 学会等名 第91回日本生化学会大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 庄司光男, 村川武志, 重田育照, 岡島俊英
2. 発表標題 銅含有アミン酸化酵素におけるセミキノン ラジカル生成機構についての理論的解明
3. 学会等名 分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 銅含有アミン酸化酵素の反応中間体構造と触媒機構
3. 学会等名 平成30年度J-PARC MLF産業利用報告会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 村川武志
2. 発表標題 In crystallo thermodynamic analysisによる銅アミン酸化酵素の反応機構解析
3. 学会等名 酵素補酵素研究会2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の中性子構造解析と動的構造
3. 学会等名 日本学術振興会回折構造生物第169委員会中性子・放射光連携小委員会合同研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 非凍結状態結晶の X 線回折測定による酵素触媒反応中間体の解析
3. 学会等名 蛋白研セミナー & SPring-8 先端利用技術ワークショップ「SPring-8 における蛋白質構造生物学研究の現状と将来」（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 高分解能X線および中性子構造解析による酸化型銅アミン酸化酵素の活性中心構造
3. 学会等名 平成29年度第1回構造生物学研究会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 庄司光男, 村川武志, 重田育照, 岡島俊英
2. 発表標題 銅含有アミン酸化酵素における触媒反応中のプロトン化状態についての理論的解明
3. 学会等名 第17回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の反応中間体構造と中性子構造解析の現状
3. 学会等名 2016年度第1回水和ナノ構造研究会（招待講演）
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 岡島 俊英、村川 武志、栗原 和男、安達基泰、柴崎 千枝、玉田 太郎、林 秀行、谷澤 克行
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素活性中心の高分解能 X線および中性子結晶構造
3. 学会等名 第8回MLFシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2017年

1 . 発表者名 H. Yamaguchi, T. Murakawa, M. Kataoka, Y. Kawano, H. Hayashi, K. Tanizawa and T. Okajima
2 . 発表標題 Analysis of the Catalytic Mechanism of Copper Amine Oxidase from <i>Arthrobacter globiformis</i> .
3 . 学会等名 International Symposium on Diffraction Structural Biology 2016 (国際学会)
4 . 発表年 2016年

1 . 発表者名 T. Okajima, T. Nakai, K. Tanizawa, T. Murakawa, and H. Hayashi
2 . 発表標題 X-ray crystallographic structure of semiquinone radical intermediate formed in bacterial copper amine oxidase
3 . 学会等名 Fifth International Conference on Cofactors (ICC-05) & Active Enzyme Molecule 2016 (国際学会)
4 . 発表年 2016年

1 . 発表者名 M. Shoji,
2 . 発表標題 A quantum chemical study of the glycine formation reactions in interstellar medium
3 . 学会等名 ABC workshop
4 . 発表年 2017年

1 . 発表者名 氏家謙、庄司光男、原田隆平、村川武志、重田育照、林秀行
2 . 発表標題 スレオニン合成酵素における生成物支援機構の理論的解明
3 . 学会等名 第 5 4 回生物物理学会年会
4 . 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

宙に浮く水素イオン?! 大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界
https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2020/20200428_1
宙に浮く水素イオン?! 大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界
https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/hot_topics/topics_20200428/
宙に浮く水素イオン?! 大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界
<https://www.osaka-med.ac.jp/news/research/f2pjgc000000fjnt.html>
宙に浮く水素イオン?! 大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界
<https://www.qst.go.jp/site/press/40567.html>
宙に浮く水素イオン?! 大型タンパク質の中性子結晶構造解析で見えた特異な世界
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p202004280400.html>
結晶の中でタンパク質の“生きた状態”の観察に成功
https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/toppage/hot_topics/topics_20181220/
結晶の中でタンパク質の“生きた状態”の観察に成功
https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2018/20181220_1
結晶の中でタンパク質の“生きた状態”の観察に成功
<https://www.osaka-med.ac.jp/news/research/v9oak00000006j6e.html>
AGAO
<https://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/smb/agao.html>
AGAO (Anthrobacter globiformis amine oxidase)
<http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/labs/smb/AGAO.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中井 忠志 (Nakai Tadashi) (00333344)	広島工業大学・生命学部・准教授 (35403)	
研究分担者	庄司 光男 (Shoji Mitsuo) (00593550)	筑波大学・計算科学研究センター・助教 (12102)	
研究分担者	村川 武志 (Murakawa Takeshi) (90445990)	大阪医科大学・医学部・助教 (34401)	