

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 23 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2014

課題番号：23370050

研究課題名(和文)スナップショット構造を基にしたメチオニンガンマリアーゼの酵素反応機構の解明

研究課題名(英文)Structural characterization of reaction pathway in a PLP-enzyme, methionine gamma-lyase: crystallographic snapshots of key intermediates

研究代表者

原田 繁春(Harada, shigeharu)

京都工芸繊維大学・工学科学研究科・教授

研究者番号：80156504

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,900,000円

研究成果の概要(和文)：ピリドキサルリン酸(PLP)を補酵素に持つ赤痢アメーバ由来メチオニン リアーゼ(EhMGL1)の酵素反応機構の解明を目指し、リガンドフリー体、ミカエリス複合体およびEhMGL1結晶内にトラップした一連の酵素反応中間体(中間体-1～中間体-4)のX線構造を決定した。これらの構造から、PLP-酵素間(Lys205)のシッフ塩基がPLP-基質メチオニン間のシッフ塩基へ変化することで始まる酵素反応機構を中間体構造に基づいて実証できた。この機構は従来の研究で予想されていた機構と一致する。一方、反応の最終段階が[1,5]-シグマトロピー転移によって非酵素的に進むことを新たに明らかにできた。

研究成果の概要(英文)：Pyridoxal 5'-phosphate (PLP) is an indispensable cofactor in many enzymes. The catalytic mechanism of the first part, from substrate binding to PLP to formation of quinonoid intermediate, is characterized in several PLP enzymes, but the latter half is not fully understood. We determined X-ray structures of a series of reaction intermediates to elucidate the mechanism of PLP-dependent methionine γ -lyase. The structures reveal that the methionine degradation is carried out by aldimine-based C4'-N-C system, followed by proton migration from the C to C4' position. After releasing methanethiol, the latter half of intermediates suggest that the reaction processes leading to the releasing 2-aminobutyrate accounted for a concerted [1,5]-hydrogen sigmatropy with respect to the C4' and C-carbon sites. Taken together, these structural intermediates successfully depicted overall reaction process of γ -elimination.

研究分野：構造生物学

キーワード：酵素反応機構 生体分子 PLP酵素 タンパク質 時分割X線解析 スナップショット構造

1. 研究開始当初の背景

これまでに X 線解析で決定された立体構造に基づいて、多くのタンパク質の構造-機能相関が明らかにされている。中でも、基質類似物や阻害剤等との複合体構造は、酵素反応機構の解明、構造を基礎にしたドラッグデザイン等に大いに役立っている。一方、実際の酵素反応は、様々な中間体を経て構造が変化しながら進行している。従って、酵素がどのように機能するかを真に理解するには、動的構造変化を捉える必要がある。

ところで、結晶中でも反応速度が遅くなるとはいえ溶液中と同様に酵素反応が起こる。従って、結晶中で酵素反応を行って中間体をトラップし、X 線解析すれば反応過程に存在する様々な中間体構造、すなわち酵素が働いている様子を動的に捉えることが原理的にできる。しかし、結晶中での酵素反応が全ての酵素分子で同期して進むわけではないので、いろんな構造が結晶中に混在し、X 線解析で中間体構造を決定することは絶望的であると考えられてきた。

しかし、我々は、L-メチオニンやホモシステインの γ 脱離反応を触媒し、アンモニア、 α ケト酸およびメタンチオールに分解する酵素 [文献 -]、赤痢アメーバのメチオニン γ リアーゼ 1 (EhMGL1) の結晶をメチオニン含有溶液に短時間ソーキングすると結晶内で酵素反応が起こり、液体窒素温度で結晶を凍結すれば反応中間体が EhMGL1 に結合した複合体結晶を調製できることを見出した。

2. 研究の目的

本研究では、EhMGL1 結晶をメチオニン含有溶液に時間を変えてソーキングし、液体窒素温度での凍結によって一連の反応中間体を結晶内にトラップして X 線解析を行い、それらの構造から EhMGL1 の酵素反応機構を明らかにすることを目的とする。

従来の酵素反応機構に関する構造生物学的研究は、基質類似物や阻害剤との複合体構造に基づいており、反応中間体構造の決定まで行われている例は極めて少ない。従って、本研究で得られる成果によって、酵素が実際に働いている姿を見ることによって酵素反応機構を理解できる。これは、タンパク質立体構造という三次元空間に時間軸を加えた新たな世界を切り開くことである。

3. 研究の方法

(1) 結晶化

大腸菌で大量発現した GST タグ融合全長 EhMGL1 を GSTrap HP カラムに結合させてカラム内でタグを切除した。さらにゲル濾過精製によって、結晶化に用いる EhMGL1 を得た。リガンドフリー-EhMGL1 の結晶化は、シッピングドロップ蒸気拡散法で、1.8 M 硫酸、0.1 M カコジル酸緩衝液 pH6.2、0.1 M クエン酸リチウム、0.1 mM PLP をリザーバー

溶液に用いて、20°C で行った[文献]。

(2) 酵素反応中間体複合体結晶の調製

リガンドフリー-EhMGL1 結晶を 50 mM メチオニン含有抗凍結剤溶液 (2.2 M 硫酸、0.1 M カコジル酸緩衝液 pH 6.2、0.1 M クエン酸リチウム、0.1 mM PLP、20% (w/v) glycerol) にソーキングし、結晶内でメチオニンの γ 脱離反応を開始させた。ソーキング開始から 30 秒~120 秒後に結晶を液体窒素で凍結して結晶内酵素反応で生成した反応中間体をトラップし、EhMGL1-反応中間体複合体結晶を調製した。

(3) X 線回折強度データの測定と構造解析

回折強度データの測定は SPring-8 BL41XU、BL44XU および PF NW12A、BL5A、BL17A で行った。HKL2000 を使って回折像を処理し、構造解析に必要なデータを得た。リガンドフリー-EhMGL1 の構造 (1.97 Å 分解能、pdb code 3ACZ) は *Pseudomonas putida* 由来 MGL の構造 (pdb code 2O7C, [文献]) をモデル分子に分子置換法で決定した。次に 3ACZ をモデル分子に 6 個の EhMGL1-反応中間体複合体構造を 2.6~2.0 Å 分解能で決定した (pdb codes: 3AEJ, 3AEM, 3AEN, 3AEL, 3AEO, 3AEP)。EhMGL1 はサブユニット A~D から成るホモ 4 量体で存在しているので、6 個の結晶構造から 24 個のサブユニット構造が得られた。これらのサブユニットに結合している反応中間体構造を調べたところ、3AEN-C サブユニットの活性部位はリガンドフリーだった。一方、3つのサブユニット (3AEJ-C, 3AEM-C and 3AEN-A) は、活性部位にメチオニンが結合したミカエリス複合体であった。さらに、4 種類の間mediate (中間体-1a: 3AEJ-A, -D サブユニット、中間体-1b: 3AEJ-B サブユニット、中間体-2: 3AEM-A, -B, D, 3AEL-B, -C, -D サブユニット、中間体-3: 3AEO-A, -B, -C, -D サブユニット、中間体-4: 3AEL-A, 3AEN-B, -D, 3AEP-A, B, C, -D サブユニット) を同定することができた。

4. 研究成果

(1) EhMGL1 の全体構造

すでに構造決定されている他生物種の MGL と同様、EhMGL1 は 2 つの catalytic dimer (A-D および B-C ペア) から成るホモ 4 量体構造をとっていた (図 1)。リガンドフリー-EhMGL の活性部位にはピリドキサルリン酸 (PLP) が結合し、Lys205 とシッフ塩基を形成 (内部アルジミン) していた。各サブユニットは、N 末ドメイン (残基 1~56)、PLP 結合ドメイン (残基 57~255)、C 末ドメイン (残基 256~390) 構造から成り、二次構造として 15 本の α ヘリックス ($\alpha 1$ ~ $\alpha 15$) と 12 本の β 鎖 ($\beta 1$ ~ $\beta 12$) が存在していた。各サブユニットの活性部位入り口は catalytic dimer を形成している他方のサブユニットの $\alpha 2/\alpha 3$ ループ (残基 46~57) でふさがれていた。PLP は

種を超えて保存されている5つのアミノ酸残基(Gly83、Met84、Asn155、Tyr108、Asp180、Ser202、Ser204、Tyr53、Arg55；*印は catalytic dimer 中の一方のサブユニットのアミノ酸残基を示す。)と水素結合を形成していた。これらの水素結合は、本研究で決定したすべての構造に見られた。また、リガンドフリー EhMGL1 の活性部位には結晶化剤溶液に含まれている硫酸イオンが結合しており、Asn155、Lys205、Arg367 の側鎖および Ser332 の主鎖窒素原子と水素結合を形成していた。おそらく活性部位の安定化に関わっていると考えられる。

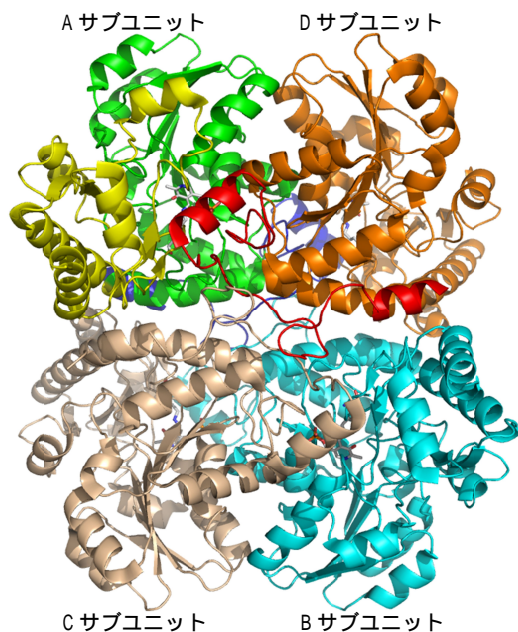


図 1. EhMGL1 の四量体構造。A サブユニットの N 末ドメイン、PLP 結合ドメイン、C 末ドメインは紫、緑、黄で色分けしてある。Catalytic dimer (A-D、B-C ペア)のうち、D サブユニットの α_2/α_3 ループを赤で示す。

(2) メチオニン分解反応中間体構造 ミカエリス複合体の構造

メチオニンの α -COO 基が硫酸イオンと置き換わり、Ser332、Asn155、Arg367 と水素結合していた。また、メチオニンの α -アミノ基 N 原子は PLP C4' と極めて近い距離 (2.5 Å) にあり、C4' に結合して四面体中間体を形成する直前の構造を示していた。また、Tyr108 の OH 基との水素結合を通じて、外部水分子につながる水素結合ネットワーク (Tyr108 OH...Cys110 SH...Lys234 N ζ ...H $_2$ O) に組み込まれていた。このネットワークによって EhMGL1 に結合したメチオニンの α -アミノ基 ($-\text{NH}_3^+$) はプロトンを引き抜かれて $-\text{NH}_2$ になると考えられる。また α -アミノ基は、もう一つの水素結合ネットワーク (メチオニン $-\text{NH}_2$...Tyr108 OH...Arg55 N η ...PLP PO $_4^-$) によって求核性が高められ、C4' の求核攻撃が可能

になっていると考えられる (図 2)。

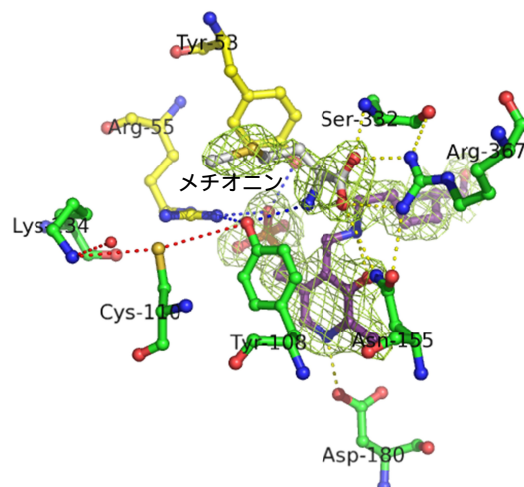


図 2. ミカエリス複合体

中間体-1a および-1b の構造

これらは Lys205 に代わってメチオニンが PLP とシッフ塩基 (外部アルジミン) を形成している。中間体-1a (図 3a) と 1b (図 3b) は C4-C4' 結合回りの二面角 (1a: -102° , 1b: -9°) が異なっている。メチオニンの α アミノ基の位置が、ミカエリス複合体と 1a でほぼ同じことから、中間体-1a ができた後、C4-C4' 結合回りの回転によって 1b へとコンフォメーション変化すると考えられる。この変化は、中間体-1b で形成されている PLP ピリジン環 3 位の -OH 基とメチオニン α アミノ基間の水素結合形成が原動力になっていると考えられる。さらに中間体-1b では C4-C4'=N α -C α と PLP ピリジン環が同一平面上に並び、C α -H 結合はこの平面にほぼ直交している。

中間体-2

中間体-2 (図 3c) はプロトトロピック互変異性によって、中間体-1b (C4'=N α -C α) の C α プロトンが C4' に転移し、C4'-N α =C α 二重結合を形成した構造を示している。この転移は、Tyr53 OH を介して PLP リン酸基と水素結合することで求核性が高められた Lys205 の ϵ -アミノ基が行うと考えられる。

中間体-3

中間体-2 から C β プロトンが α アミノ基に転移してできる中間体-3 (図 3d) は、C4'-N α -C α =C β 構造を示している。二重結合の移動に伴い、ピリジン環から C γ まだが同一平面上に存在する。

中間体-4

中間体-4 は外部アルジミンを形成していたメチオニンから CH $_3$ SH が脱離した構造である。この中間体構造を示す 7 つのサブユニットのうち、3 つ (中間体-4a: 3AEL-A、3AEP-A および 3AEP-C サブユニット) は CH $_3$ SH の電子密度が外部アルジミン近傍に認められ

た。さらに、電子密度図は、 $C\alpha=C\beta$ 二重結合に関して、 α アミノ基と $C\gamma$ は *cis* (図 3e) と *trans* (図 3f) の両方が混じって結晶中に存在していることを示していた。一方、残り (中間体-4b: 3AEN-B、-D、3AEP-B、D サブユニット) は *trans* の関係にあった。

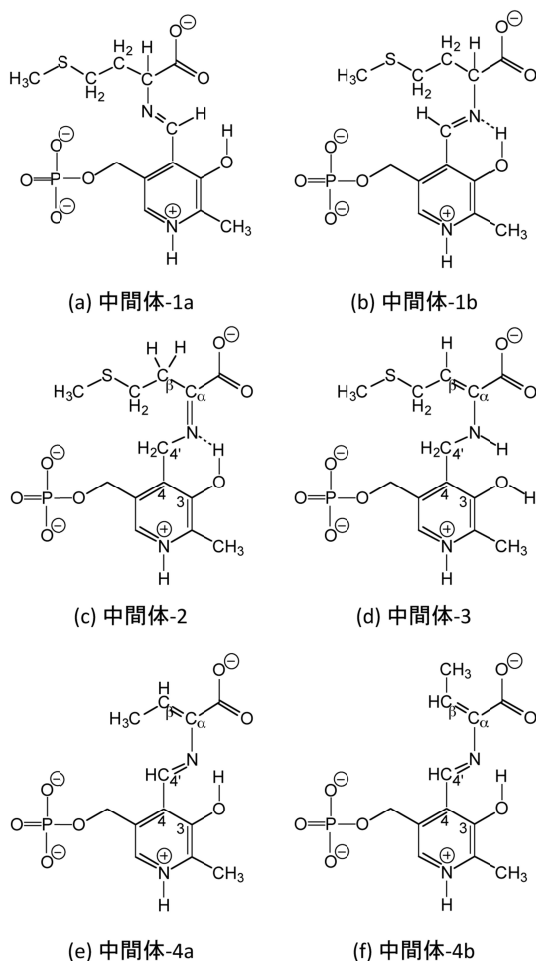


図 3. EhMGL1 結晶中にトラップした中間体-1a~4b の構造

(3) EhMGL1 の酵素反応機構

EhMGL1 結晶中に液体窒素温度でトラップしたメチオニン分解反応中間体構造から酵素反応機構を考察した。

PLP-methionine imine の生成 (transamination 反応)

まず、メチオニンがリガンドフリーEhMGL1に結合してミカエリス複合体 (図 2) ができる。次に Lys205 が内部アルジミンから脱離してメチオニンが外部アルジミンを形成 (図 3a, b) する。EhMGL1 に結合したメチオニンの α -NH₃⁺ は、水素結合ネットワーク (α -NH₃⁺...Tyr108-OH...Cys110-SH...Lys234^{*}-NH₃⁺...H₂O) によってプロトンが引き抜かれて α -NH₂ となる。さらに窒素原子はもう一つの水素結合ネットワーク (α -NH₂...Tyr108-OH...Arg55^{*}-NHC(NH₂)₂⁺...PLP-PO₄²⁻)

によって求核性が高められる。その結果、メチオニンの α -NH₂ が内部アルジミンの C4'=N ζ に求核付加して四面体中間体ができる。この中間体から Lys205 が脱離して中間体-1 (PLP-methionine imine) が生成する。

二重結合の 1,3-プロトトロピックシフト

酵素反応の次のステップで PLP-methionine imine の C4'=N 二重結合 (中間体-1b、図 3b) が N=C α (中間体-2、図 3c) を経て C α =C β (中間体-3、図 3d) へ移動する。この反応は C α プロトンの C4'への移動と C β プロトンの N への移動が連続することで行われる。これらのプロトン移動は、PLP から脱離後、Arg55^{*} を介した PLP PO₄²⁻ との水素結合で求核性が高められている Lys205 の ϵ -NH₂ によって行われる。中間体-1b はキノイド中間体を経て中間体-2 になると考えられる。

CH₃SH の脱離反応

中間体-3 (図 3d) から CH₃SH 脱離することによって中間体-4 (図 3e, f) が生成する。中間体-3 において CH₃S⁻置換基は、C α =C β 二重結合のアリル位にあるので、脱離し易くなっている。CH₃S⁻置換基へのプロトン供給は、S 原子と近距離 (3.2 Å) にある Tyr108 OH によって行われると考えられる。Tyr108 は Lys234 および Cys110 を介して外部の水分子と水素結合ネットワークを形成しているので、このネットワークを通じてプロトンが外部水分子から供給される。

[1,5]-シグマトロピー転移

本研究では、中間体-3 から CH₃SH の脱離によって生じる中間体、 β,γ -unsaturated α -iminobutyrate をトラップすることができなかった。その理由はこの中間体が極めて早く、非酵素的に [1,5]-シグマトロピー転移によって中間体-4a に変換されるからと考えることができる。中間体-4a について、*cis* 体と *trans* 体両方の存在がシグマトロピー転移の可能性を示している。

内部アルジミンの再生

中間体-4b に Lys205 の ϵ -NH₂ が求核攻撃することで内部アルジミンが再生される。この時、 ϵ -NH₂ は Tyr53 を介した PLP PO₄²⁻ との水素結合ネットワークによって求核性が高められている。脱離基は水と反応して酵素反応の最終生成物であるアンモニアと 2-oxobutyrate に分解される。

以上、本研究によって分光学的データ等によって推定されていた MGL の反応機構を構造生物学的に実証することができた。また、メチオニン分解の最終段階は非酵素的に [1,5]-シグマトロピー転移で行われる可能性を示すことができた。

<引用文献>

Toney, M.D. Reaction specificity in pyridoxal phosphate enzymes. *Arch Biochem Biophys* **433**, 279-87 (2005).

Schomburg, I. et al. BRENDA: a resource for enzyme data and metabolic information. *Trends Biochem Sci* **27**, 54-6 (2002).

Percudani, R. & Peracchi, A. The B6 database: a tool for the description and classification of vitamin B6-dependent enzymatic activities and of the corresponding protein families. *BMC Bioinformatics* **10**, 273 (2009).

Sato, D. & Nozaki, T. Methionine gamma-lyase: the unique reaction mechanism, physiological roles, and therapeutic applications against infectious diseases and cancers. *IUBMB Life* **61**, 1019-28 (2009).

Yoshimura, M. et al. Formation of methyl mercaptan from L-methionine by Porphyromonas gingivalis. *Infection and immunity* **68**, 6912-6 (2000).

Rébéille, F. et al. Methionine catabolism in Arabidopsis cells is initiated by a gamma-cleavage process and leads to S-methylcysteine and isoleucine syntheses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 15687-92 (2006).

Song, H., Xu, R. & Guo, Z. Identification and Characterization of a Methionine gamma-Lyase in the Calicheamicin Biosynthetic Cluster of Micromonospora echinospora. *Chembiochem* (2014).

Kappes, B. et al. PLP-dependent enzymes as potential drug targets for protozoan diseases. *Biochim Biophys Acta* **1814**, 1567-76 (2011).

Cavuoto, P. & Fenech, M.F. A review of methionine dependency and the role of methionine restriction in cancer growth control and life-span extension. *Cancer Treat Rev* **38**, 726-36 (2012).

Huang, T., Joshi, V. & Jander, G. The catabolic enzyme methionine gamma-lyase limits methionine accumulation in potato tubers. *Plant Biotechnol J* **12**, 883-93 (2014).

Sato, D. et al. Kinetic characterization of methionine gamma-lyases from the enteric protozoan parasite Entamoeba histolytica against physiological substrates and trifluoromethionine, a promising lead compound against amoebiasis. *FEBS J* **275**, 548-60 (2008).

Sato, D. et al. Crystallization and preliminary X-ray analysis of L-methionine gamma-lyase I from Entamoeba histolytica. *Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun* **64**, 697-9 (2008).

Kudou, D. et al. Structure of the antitumour enzyme L-methionine gamma-lyase from *Pseudomonas putida* at 1.8 Å resolution. *J.Biochem.(Tokyo)*, 141:535-544 (2007).

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 10 件)

Young L., May B., Pendlebury-Watt A., Shearman J., Elliott C., Albury MS., Shiba T., Inaoka DK., Harada S., Kita K., Moore AL. Probing the ubiquinol-binding site of recombinant *Sauromatum guttatum* alternative oxidase expressed in *E. coli* membranes through site-directed mutagenesis. *Biochim Biophys Acta*. 1837, 1219-25 (2014). 査読有り

Balogun EO, Inaoka DK, Shiba T, Kido Y, Tsuge C, Nara T, Aoki T, Honma T, Tanaka A, Inoue M, Matsuoka S, Michels PA, Kita K, Harada S. Molecular basis for the reverse reaction of African human trypanosomes glycerol kinase. *Mol Microbiol.* 94, 1315-29 (2014). 査読有り

Emmanuel Oluwadare Balogun, Daniel Ken Inaoka, Tomoo Shiba, Yasutoshi Kido, Takeshi Nara, Takashi Aoki, Teruki Honma, Akiko Tanaka, Masayuki Inoue, Shigeru Matsuoka, Paul AM. Michels, Shigeharu Harada & Kiyoshi Kita, Biochemical characterization of highly active *Trypanosoma brucei gambiense* glycerol kinase, a promising drug target. *J. Biochemistry*, **154**, 77-84 (2013). 査読有り

Luke Young, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada, Kiyoshi Kita, Mary S. Albury, Anthony L. Moore, The alternative oxidases: simple oxidoreductase proteins with complex functions, *Biochem Soc Trans.* **41**, 1305-1311 (2013). 査読有り

A.L. Moore, T. Shiba, L. Young, S. Harada, K. Kita and K. Ito, Unraveling the Heater: New Insights into the Structure of the Alternative Oxidase. *Annual Review of Plant Biology*, **64**, 637-663 (2013). 査読有り

Shigeharu Harada, Daniel Ken Inaoka, Junko Ohmori, Kiyoshi Kit, Diversity of parasite complex II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, **1827**, 658-667 (2013). 査読有り

Tomoo Shiba, Yasutoshi Kido, Kimitoshi Sakamoto, Daniel Ken Inaoka, Chiaki Tsuge, Ryoko Tatsumi, Gen Takahashi, Emmanuel Oluwadare Balogun, Takeshi Nara, Takashi Aoki, Teruki Honma, Akiko Tanaka, Masayuki Inoue, Shigeru Matsuoka, Hiroyuki Saimoto, Anthony L. Moore, Shigeharu Harada, Kiyoshi Kita, Structure of the trypanosome cyanide-insensitive alternative oxidase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 4580-4585 (2013). 査読有り

Audu J. Natala, Emmanuel O. Balogun, Joshua A. B. Balogun, Hajiya M. Inuwa, Andrew J. Nok, Tomoo Shiba, Shigeharu Harada, Kiyoshi Kita, Rowland I. S. Agbede, and King A. N. Identification and Characterization of Sialidase-Like Activity in the Developmental Stages of *Amblyomma variegatum*, *Journal of Medical Entomology*, **50**, 85-93 (2013). 査読

有り

Mitsuki FUKUMOTO, Daizou KUDOU, Shouko MURANO, Tomoo SHIBA, Dan SATO, Takashi TAMURA, Shigeharu HARADA & Kenji INAGAKI, The Role of Amino Acid Residues in the Active Site of L-Methionine γ -lyase from *Pseudomonas putida*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, **76**, 1275-1284 (2012). 査読有り

Okuda, M., Shiba, T., Inaoka, D., Kita, K. Kurisu, G., Mineki, S. Harada, S., Watanabe, Y. & Yoshinari, S., A Conserved Lysine Residue in the Crenarchaea-Specific Loop is Important for the Crenarchaeal Splicing Endonuclease Activity. *J. Mol. Biol.*, **405**, 92-101 (2011). 査読有り

〔学会発表〕(計 10 件)

湯之戸俊介、安田江里、古谷和大、福本充樹、工藤大蔵、志波智生、佐藤暖、田村隆、原田繁春、稲垣賢二、*Pseudomonas putida* 由来メチオニン γ -リアーゼの結晶構造解析、第 87 回日本生化学会大会、2014 年 10 月 15 日、京都市 国立京都国際会館

安田江里、古谷和大、佐藤暖、福本充樹、工藤大蔵、志波智生、原田繁春、田村隆、稲垣賢二、L-メチオニン γ -リアーゼ基質複合体の X 線結晶構造解析と基質認識に関わる残基の機能解析、日本ビタミン学会第 66 回大会、2014 年 6 月 13 日、姫路市 姫路商工会議所

古谷和大、湯之戸俊介、福本充樹、工藤大蔵、志波智生、佐藤暖、田村隆、原田繁春、稲垣賢二、*Pseudomonas putida* 由来メチオニン γ -リアーゼの結晶構造解析、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日、横浜市 パシフィコ横浜

清水あやか、花田尚子、山田哲也、田村 隆、佐藤 暖、志波智生、稲垣賢二、原田繁春、好熱好酸性アーキア *Sulfolobus tokodaii* 由来シスタチオニン γ -シターゼの構造解析、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日、横浜市 パシフィコ横浜

酒井 菜摘、岡 知宏、村野 祥子、唐木 剛、野崎 智義、佐藤 暖、志波 智生、原田 繁春、赤痢アメーバ由来メチオニン γ -リアーゼの結晶学的構造解析、第 86 回日本生化学会大会、2013 年 9 月 11 日、横浜市 パシフィコ横浜

清水あやか、花田尚子、山田哲也、田村隆、志波智生、稲垣賢二、原田繁春、好熱好酸性アーキア *Sulfolobus tokodaii* 由来シスタチオニン合成酵素の X 線結晶構造解析、第 13 回蛋白質科学会年会、2013 年 6 月 12 日、鳥取市 とりぎん文化会館

酒井 菜摘、岡 知宏、村野 祥子、唐木 剛、野崎 智義、佐藤 暖、志波 智生、原田 繁春、赤痢アメーバ由来メチオニン γ -リアーゼの精製と結晶構造解析、第 13 回蛋白質科学会年会、2013 年 6 月 12 日、鳥取市 とりぎん文化会館

山田哲也、田村 隆、花田尚子、清水あやか、志波智生、原田繁春、稲垣賢二、好熱好酸性アーキア *Sulfolobus tokodaii* 由来シスタチオニン γ -シターゼの活性中心残基残基の機能解析、第 85 回日本生化学会大会、2012 年 12 月 14 日、福岡市 福岡国際会議場
岡知宏、佐藤暖、村野祥子、唐木剛、中沢隆、野崎智義、原田繁春、赤痢アメーバメチオニン γ -リアーゼ 1 の結晶中で捉えた γ -脱離反応機構、第 84 回日本生化学会大会、2011 年 9 月 21 日、京都市 国立京都国際会館

岡知宏、佐藤暖、村野祥子、唐木剛、中沢隆、野崎智義、原田繁春、赤痢アメーバメチオニン γ -リアーゼ 1 の結晶中で捉えた γ -脱離反応進行に伴うスナップショット構造、第 11 回日本蛋白質科学会年会、2011 年 6 月 7 日、大阪府吹田市 ホテル阪急エキスポパーク

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

<http://www.bio.kit.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 繁春 (HARADA, Shigeharu)

京都工芸繊維大学・工芸科学研究科・教授
研究者番号：80156504

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：