

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2014

課題番号：22370060

研究課題名(和文)ヘム・銅酸素還元酵素のエネルギー変換機構解明のための構造・機能解析

研究課題名(英文)Structural and functional analyses of heme-copper oxygen reductases to elucidate the energy transduction mechanism

研究代表者

村本 和優 (Muramoto, Kazumasa)

兵庫県立大学・生命理学研究科・准教授

研究者番号：50305679

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)：呼吸鎖電子伝達系のヘム・銅酸素還元酵素は酸素分子の還元反応(電子伝達)で放出されるエネルギーを効率的に水素イオン能動輸送(プロトンポンプ)の駆動力へと変換する。ヘム・銅酸素還元酵素ファミリーに属するaa3タイプのX線結晶構造に基づいて、1) 酸素分子の結合様式、2) O-O結合開裂機構、3) 反応中間体構造、4) 休止型構造、5) 電子伝達に伴う構造変化が明らかになった。cbb3タイプの精製方法が確立され、cbb3タイプとaa3タイプの酵素活性を比較することにより、電子伝達効率の特性が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Heme-copper oxygen reductase in respiratory electron transport chain efficiently converts energy released in the reduction reaction of molecular oxygen (electron transfer) to driving force for the active transport of hydrogen ion (proton pump). 1) binding manner of molecular oxygen, 2) O-O bond cleavage mechanism, 3) reaction intermediate structure, 4) the resting form structure, 5) structural change coupled to electron transfer were found based on the x-ray crystal structures of aa3-type, which belongs to the heme-copper oxygen reductase family. Purification method of cbb3-type was established, and property of the electron transfer efficiency was found by comparing the enzymatic activity of cbb3-type with that of aa3-type.

研究分野：生物物理学

キーワード：生物物理 ナノバイオ 蛋白質 酵素 呼吸鎖 生体エネルギー変換 X線結晶構造解析

1. 研究開始当初の背景

ミトコンドリア内膜や細菌細胞膜にある呼吸鎖は酸化還元反応(電子伝達)で放出されるエネルギーによって水素イオン(プロトン)を能動輸送する(プロトンポンプ)。エネルギーは、膜を介したプロトン濃度勾配に変換され、ATP合成や物質輸送などの重要な生命活動に利用される。

呼吸鎖電子伝達系のヘム・銅酸素還元酵素はO₂還元反応とプロトンポンプのエネルギー変換を効率的に実現する。ヘム・銅酸素還元酵素は原核生物から高等生物まで普遍的に存在し、スーパーファミリーを形成する。スーパーファミリーは数タイプのサブファミリーに分類され、*aa₃*と*cbb₃*タイプではプロトン輸送経路とエネルギー変換効率が異なり、O₂分圧の異なる環境に適応して機能する。

*aa₃*タイプは古くから研究対象にされ、生化学的知見が蓄積されてきた。結晶構造が報告された1995年以降は、我々も含め複数の研究グループにより構造解析も進められてきた。*cbb₃*タイプは近年発見され、2010年に他の研究グループから結晶構造が報告された。

2. 研究の目的

効率の高いエネルギー変換機構を解明することを目的として、*aa₃*タイプの構造機能解析を行う。エネルギー変換効率を決定する構造化学的要因を解明することを目的として、*aa₃*タイプの構造と機能を*cbb₃*タイプと比較解析する。

3. 研究の方法

*aa₃*タイプについては、エネルギー変換機能に関わる構造変化をX線結晶解析によって高精度で決定する。*cbb₃*タイプについては、高分解能での構造決定を目指した結晶化を行うとともに、酵素活性を測定する。

4. 研究成果

*aa₃*タイプ

O₂結合様式およびO-O結合開裂機構 O₂還元反応(O₂ + 4H⁺ + 4e⁻ → 2H₂O)の過程では、還元状態にある触媒部位(ヘム・銅部位)に結合したO₂へ電子とプロトンが移動することにより、O-O結合が速やかに開裂する。一方で、O₂アナログ分子であるCO、NO、CN⁻イオンは還元状態の触媒部位に安定に結合する。O₂の結合様式、ならびにO-O結合開裂に伴う酵素の構造変化を明らかにするため、不安定なO₂に代えアナログ分子が結合した酵素の結晶構造を決定した。

COとNOはそれぞれ銅原子とヘム鉄原子に結合することが分かった。これらの結合様式は、O₂が触媒部位へ結合するときの結合様式と見做される。結合に伴いタンパク質部分にも構造変化が起き、この変化はプロトンポンプ機構に関与することが示唆される。[雑誌論文7 学会発表42, 44]

CN⁻イオンの結合に伴い触媒部位付近に構造変化が生じ、CN⁻と触媒部位間に3つの化学結合が形成されることが分かった。O₂還元反応過程では、それらの結合を介して3電子と1プロ

トンがO₂⁻へ移動することにより、活性酸素種の生成を抑え効率よくO-O結合の開裂が実現すると考えられる。[雑誌論文7 学会発表31, 33, 34, 35, 43, 45]

O₂還元反応中間体・酵素複合体の構造 O₂還元反応の過程では、O-O結合が開裂した後から酵素が始め状態に戻るまでに、4電子と4プロトンが触媒部位へ段階的に移動する。各段階では反応中間体・酵素複合体(P, F, O, E)が順に生成し消滅する。各複合体は分光学的手法により同定される。一方で、H₂O₂と酵素との反応では、P型もしくはF型がH₂O₂濃度に依存して生成し、安定に存在することが知られている。反応中間体の生成消滅に伴う酵素分子の構造変化を明らかにするため、P, F, O型を含む結晶標品の作製方法を確立し、X線結晶解析を行った。

酵素結晶とH₂O₂を反応させ、結晶の可視吸収スペクトルの時間変化から反応中間体を確認し、P型またはF型を含む結晶を調製した。結晶を急速凍結することにより反応の進行を止め、中間体構造を固定した。凍結結晶のX線回折実験を行い、1.8 Å分解能までの回折データを収集した。構造解析の結果、H₂O₂との反応の前後で触媒部位の構造に変化があることが分かった。[学会発表17, 18, 21, 26, 27, 38, 39]

酵素結晶とO₂を反応させ、結晶の可視吸収スペクトルの時間変化を測定することにより反応中間体を確認し、O型を含む結晶を調製した。1.6 Å分解能までの回折データに基づいた解析の結果、触媒部位の構造がO₂との反応前および休止型酵素のいずれとも異なっていることが分かった。さらに、O型に特有のプロトン輸送経路の水分子の水素結合構造が明らかになった。[学会発表17, 18, 21, 25, 32, 40]

休止型酵素の構造 O₂存在下で長時間単離された酵素は不活性な酸化状態である休止型として安定化する。休止型の結晶からは他の状態の結晶と比べて経験的に高い分解能の回折データが測定される。構造解析の精度向上を目的として、休止型のX線結晶解析法の検討を行った。また、休止型の触媒部位に結合している分子種を同定するためのX線結晶解析を行った。

結晶の凍結方法ならびにX線回折測定法を検討した結果、最高1.2 Å分解能以上の回折点が観測され回折データの分解能が向上した。1.4 Å分解能までのデータに基づいた解析の結果、電子密度図の精度が顕著に向上し、酵素内部や表面での水分子の配置やアミノ酸側鎖の構造が詳細に決定された。[学会発表12, 19, 20, 24, 29, 36]

重原子によるX線の異常散乱効果を利用した構造解析の結果、休止型の触媒部位に結合している分子種がCl⁻イオンではないことが明らかになった。[雑誌論文4 学会発表41]さらに、多数の同形な休止型の凍結結晶を作製し、XFELの短時間パルスX線を利用したX線構造解析を行った結果から、分子種はO₂²⁻イオンであることが示唆される。[雑誌論文1]

電子伝達に伴う構造変化 O₂還元反応過程での電子伝達に伴い、触媒部位を含めた4つの金属部位では酸化還元状態が変化する。酸化還元に伴う構造変化を明らかにするため、全ての部位が酸化状態にある酵素(休止型、N₃⁻結合酸化型、CN⁻結合酸化型)、全てが還元状態の酵素(還元型)、酸化状態と還元状態の部位が混在する酵素(CO結合部分酸化型、CN⁻結合部分還元型)のX線結晶解析を行った。

休止型と還元型の1.4 Å分解能までの回折データに基づいた構造比較の結果、以前見出された構造変化に加えて、酵素の触媒部位付近にあるMg²⁺イオン結合部位と接する水分子のクラスター構造の変化が見出された。構造変化が電子伝達経路の僅かな構造変化と共役することから、水分子の動きは電子移動と共役したプロトン輸送機能を担うことが示唆される。〔学会発表 2, 3, 11, 28, 30, 37〕

N₃⁻結合酸化型とCN⁻結合酸化型の構造解析から、酸化状態の触媒部位付近にある水分子の水素結合様式が明らかになった。〔学会発表 4, 9〕CO結合部分酸化型ならびにCN⁻結合部分還元型の構造解析から、酸化還元に伴う構造変化を引き起こす金属部位を決定した。〔学会発表 5, 10〕

cbb₃タイプ

酵素の精製と結晶化 高分解能 X線結晶構造解析を行うため、cbb₃タイプの細菌における発現系を構築し、酵素の精製と結晶化を行った。発現条件を検討した結果、好気的条件下において発現量が増加することが分かった。精製過程での細胞膜の分画、膜可溶化およびクロマトグラフィー条件を検討した結果、精製標品の収量、収率および純度が有意に向上した。精製標品の結晶化条件を検討した結果、微結晶様のものが観察された。〔学会発表 6, 7, 13, 15, 22〕

O₂還元反応の特性 O₂還元反応における電子伝達効率の特性を明らかにするため、aa₃タイプとcbb₃タイプの酵素活性を比較した。電子供与体としてアスコルビン酸メディエーター(電子伝達の媒介体)としてTMPDを用いたところ、O₂消費速度がTMPDと酵素間の電子伝達により律速されることが分かった。さらにcbb₃タイプの方がaa₃タイプよりも顕著に高いO₂消費活性を示すことが分かった。cbb₃タイプの電子伝達効率はpH中性領域で最大になり、pH特性がメディエーター分子濃度に依存することが分かった。〔学会発表 1, 8, 13, 14〕

NO還元酵素

研究最終年度からヘム・銅酸素還元酵素スーパーファミリーに属するNO還元酵素も対象とし、構造機能解析に向けた酵素と電子供与体タンパク質の精製、電子供与体酸化活性(電子伝達活性)の測定および共結晶化を行った。その結果、好気条件下において活性が確認され、NO還元酵素とアズリンの混合液中で微結晶が観察された。

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 7 件)

1. Hirata K, Shinzawa-Itoh K, Yano N, Takemura S, Kato K, Hatanaka M, Muramoto K, Kawahara T, Tsukihara T, Yamashita E, Tono K, Ueno G, Hikima T, Murakami H, Inubushi Y, Yabashi M, Ishikawa T, Yamamoto M, Ogura T, Sugimoto H, Shen J-R, Yoshikawa S, Ago H. Determination of damage-free crystal structure of an X-ray sensitive protein using an XFEL. *Nature Methods* **11**, 734–736 (2014) 査読有 doi: 10.1038/nmeth.2962
2. Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K. Reaction Mechanism of Mammalian mitochondrial cytochrome *c* oxidase. In Mitochondrial oxidative phosphorylation. ed. Kadenbach, Bernhard. *Advances in experimental medicine and biology* **748**, 215–236 Springer (2012) 査読有 doi: 10.1007/978-1-4614-3573-0_9
3. Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Mochizuki M. Structural studies on bovine heart cytochrome *c* oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* **1817**, 579–89 (2012) 査読有 doi: 10.1016/j.bbabi.2011.12.012
4. Suga M[#], Yano N[#], Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. ([#]equal contribution) Distinguishing between Cl⁻ and O₂²⁻ as the bridging element between Fe³⁺ and Cu²⁺ in the resting oxidized cytochrome *c* oxidase. *Acta Cryst. D* **67**, 742–744 (2011) 査読有 doi: 10.1107/S0907444911022803
5. Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K. The O₂ reduction and proton pumping gate mechanism of bovine heart cytochrome *c* oxidase. *Biochim. Biophys. Acta* **1807**, 1279–1286 (2011) 査読有 doi: 10.1016/j.bbabi.2011.06.008
6. Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K. Proton-pumping mechanism of cytochrome *c* oxidase. *Annu. Rev. Biophys.* **40**, 205–23 (2011) 査読有 doi: 10.1146/annurev-biophys-042910-155341
7. Muramoto K, Ohta K, Shinzawa-Itoh K, Kanda K, Taniguchi M, Nabekura H, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. Bovine cytochrome *c* oxidase structures enable O₂ reduction with minimization of active oxygen species and provide a proton-pumping gate. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 7740–7745 (2010) 査読有 doi: 10.1073/pnas.0910410107

[学会発表] (計 58 件のうち 45 件を記載)

1. 村本和優 呼吸鎖電子伝達系プロトンポンプ性 C 型ヘム・銅酸素還元酵素(チトクロム *cbb₃*) の電子伝達活性 **日本生体エネルギー研究会第 40 回討論会** (愛媛大学 松山市, 2014 年 12 月 11~13 日)
2. Yoshikawa S, Yano N, Shinzawa-Itoh K, Muramoto K, Yamashita E, Tsukihara T. Improved X-ray structures of bovine heart cytochrome *c* oxidase reveal redox-driven proton active transports by Mg²⁺-containing water cluster. **The 18th European Bioenergetics Conference** (Lisbon, Portugal, 2014 年 7 月 12~17 日)
3. 矢野直峰、武村秀平、前田友子、村本和優、山下栄樹、伊藤・新澤恭子、月原富武、吉川信也 高分解能 X 線結晶構造解析によって明らかになったチトクロム *c* 酸化酵素のプロトンポンプ反応過程における Mg を含む水クラスターの機能 **第 14 回日本蛋白質科学会年会** (ワークピア横浜/横浜産貿ホール 横浜市, 2014 年 6 月 25~27 日)
4. 川原貴子、長尾修平、島田敦広、矢野直峰、武村秀平、前田友子、村本和優、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 CN⁻結合酸化型および CN⁻結合部分還元型チトクロム *c* 酸化酵素の高分解能 X 線結晶構造解析 **第 14 回日本蛋白質科学会年会** (同上)
5. 馬場淳平、島田敦広、矢野直峰、山下栄樹、武村秀平、前田友子、村本和優、伊藤・新澤恭子、月原富武、吉川信也 CO 結合型ウシ心筋チトクロム *c* 酸化酵素に対する高分解能 X 線結晶構造解析法を用いた金属酸化還元中心によるプロトンポンプ制御機構の解明 **第 14 回日本蛋白質科学会年会** (同上)
6. 大島海人、岩本唯、村本和優、城宜嗣 C 型プロトンポンプ性酸素還元酵素の精製結晶化 **第 6 回日本生物物理学会中国四国支部大会** (とりぎん文化会館 鳥取市, 2014 年 5 月 17~18 日)
7. 村本和優、岩本唯、大島海人、城宜嗣 C 型プロトンポンプ性酸素還元酵素の精製結晶化 **日本生体エネルギー研究会第 39 回討論会** (静岡県コンベンションアーツセンター 静岡市, 2013 年 12 月 18~20 日)
8. 岩本唯、安藤友里子、城宜嗣、村本和優 pH dependence of the oxygen consumption activity of the C-type heme-copper oxygen reductase. **日本生物物理学会第 51 回年会** (京都国際会議場 京都市, 2013 年 10 月 28~30 日)
9. 村本和優、望月正雄、矢野直峰、武村秀平、川原貴子、蓼原瞳、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 Structural analysis of bovine heart cytochrome *c* oxidase in the cyanide- and azide-bound fully oxidized states. **日本生物物理学会第 51 回年会** (同上)
10. 村本和優、望月正雄、谷口槇、矢野直峰、武村秀平、長尾修平、馬場淳平、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 Structural analysis of bovine heart cytochrome *c* oxidase in the CO- and cyanide-bound mixed valence states. **日本生物物理学会第 51 回年会** (同上)
11. 矢野直峰、加藤公児、山下栄樹、村本和優、伊藤・新澤恭子、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素の Mg を含む水クラスターの機能の高分解能 X 線構造解析による研究 **第 13 回日本蛋白質科学会年会** (とりぎん文化会館 鳥取市, 2013 年 6 月 12 日~14 日)
12. 武村秀平、加藤公児、矢野直峰、山下栄樹、村本和優、伊藤・新澤恭子、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素の酸性アミノ酸残基のイオン化状態の X 線結晶学的解析 **第 13 回日本蛋白質科学会年会** (同上)
13. 村本和優、安藤友里子、岩本唯、伊藤・新澤恭子、Robert B Gennis、城宜嗣 細菌呼吸鎖 *cbb₃* 型酸素還元酵素の精製と活性測定 **日本生体エネルギー研究会第 38 回討論会** (岡山大学 岡山市, 2012 年 12 月 22 日~24 日)
14. 岩本唯、安藤友里子、村本和優、Robert Gennis、城宜嗣 Oxygen consumption activity of *cbb₃*-type cytochrome *c* oxidase. **日本生物物理学会第 50 回年会** (名古屋大学 名古屋市, 2012 年 9 月 22~24 日)
15. 安藤友里子、岩本唯、村本和優、島田秀夫、Robert Gennis、城宜嗣 Purification of *cbb₃*-type cytochrome *c* oxidase. **日本生物物理学会第 50 回年会** (同上)
16. 矢野直峰、村本和優、小嶋誠司、本間道夫、城宜嗣 Gene cloning and identification of terminal oxidase of respiratory chain in *Vibrio alginolyticus*. **日本生物物理学会第 50 回年会** (同上)
17. Yoshikawa S, Kubo M, Nakashima S, Yamaguchi S, Ogura T, Mochizuki M, Kang JY, Tateno M, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K. Nanosecond time-resolved infrared basis for a bulge of the transmembrane helix between

- hemes a and a_3 to facilitate highly efficient proton pumping by bovine heart cytochrome c oxidase. *The 17th European Bioenergetics Conference* (Freiburg im Breisgau, Germany, 2012 年 9 月 15~20 日)
18. 村本和優、木登梨佳、佐々木歩惟、藤澤秀徳、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素反応中間体の X 線結晶構造解析 **第 12 回日本蛋白質科学会年会** (名古屋国際会議場 名古屋市, 2012 年 6 月 20~22 日)
 19. 矢野直峰、村本和優、伊藤・新澤恭子、前田友子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素休止酸化型の高分解能 X 線結晶構造解析 **第 12 回日本蛋白質科学会年会** (同上)
 20. 畑中美紀、藤田和也、矢野直峰、前田友子、伊藤・新澤恭子、村本和優、山下栄樹、月原富武、吉川信也 氷晶防止剤の導入方法によるウシ心筋チトクロム酸化酵素結晶の分解能の向上 **第 12 回日本蛋白質科学会年会** (同上)
 21. 村本和優、木登梨佳、佐々木歩惟、藤澤秀徳、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 チトクロム酸化酵素反応サイクルの構造解析 **日本生体エネルギー研究会第 37 回討論会** (京都産業大学 京都市, 2011 年 12 月 20~22 日)
 22. 安藤友里子、杉本あかり、島田秀夫、伊藤・新澤恭子、Robert Gennis、吉川信也、村本和優 Optimization of expression condition and purification of cbb_3 -type cytochrome c oxidase. **日本生物物理学会第 49 回年会** (兵庫県立大学 姫路市, 2011 年 9 月 16~18 日)
 23. 望月正雄、志波歩美、村本和優、伊藤・新澤恭子、前田友子、吉川信也 The effect of crystallization and cryoprotectant treatment on the absorption spectra of fully-oxidized cytochrome c oxidase. **日本生物物理学会第 49 回年会** (同上)
 24. 矢野直峰、村本和優、中川徹也、伊藤・新澤恭子、前田友子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of cytochrome c oxidase in the resting oxidized state at 1.4Å resolution. **日本生物物理学会第 49 回年会** (同上)
 25. 藤澤秀徳、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of R and O form intermediates of bovine cytochrome c oxidase. **日本生物物理学会第 49 回年会** (同上)
 26. 木登梨佳、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of P form intermediate of bovine cytochrome c oxidase. **日本生物物理学会第 49 回年会** (同上)
 27. 佐々木歩惟、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of F form intermediate of bovine cytochrome c oxidase. **日本生物物理学会第 49 回年会** (同上)
 28. Muramoto K, Fujisawa H, Yano N, Maeda T, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. Structural changes of bovine cytochrome c oxidase dependent on the redox states. *XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography* (Madrid, Spain, 2011 年 8 月 22~30 日)
 29. Yano N, Muramoto K, Suga M, Maeda T, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. High resolution analysis and anomalous dispersion analysis of bovine cytochrome c oxidase. *XXII Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography* (同上)
 30. Muramoto K, Fujisawa H, Yano N, Maeda T, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. High resolution structures of bovine cytochrome c oxidase in the resting oxidized and the reduced states. *Gordon Research Conferences, Bioenergetics* (New Hampshire, USA, 2011 年 6 月 26 日~7 月 1 日)
 31. Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Kubo M, Nakashima S, Mochizuki M, Ogura T, Aminaka R, Shimokata K, Shimada H, Yoshikawa S. Reaction mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase. *Gordon Research Conferences, Bioenergetics* (同上)
 32. 村本和優、田村直樹、藤澤秀徳、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素の還元・再酸化による構造変化 **第 11 回日本蛋白質科学会年会** (ホテル阪急エキスポパーク 大阪市, 2011 年 6 月 7~9 日)
 33. Muramoto K, Ohta K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. The O_2 reduction and protonpumping gate mechanisms of bovine heart cytochrome c

- oxidase. *Biophysical Society 55th Annual Meeting* (Maryland, USA, 2011年3月5~9日)
34. 村本和優、太田和宏、木登梨佳、佐々木歩惟、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 チトクロム酸化酵素のO₂還元反応機構 日本生体エネルギー研究会第36回討論会 (大阪大学 大阪市, 2010年11月18~20日)
35. 村本和優 Reaction mechanism of cytochrome *c* oxidase based on the O₂ analogues-bound structures. 日本生物物理学会第48回年会 (東北大学 仙台市, 2010年9月20~22日)
36. 矢野直峰、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、望月正雄、山下栄樹、月原富武、吉川信也 High resolution X-ray structural analysis of cytochrome *c* oxidase to clarify the proton pumping mechanism at hydrogen atom level. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
37. 藤澤秀徳、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、前田和範、望月正雄、菅倫寛、太田和宏、山下栄樹、月原富武、吉川信也 Redox dependent structural change of cytochrome *c* oxidase at 1.4 Å resolution. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
38. 木登梨佳、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of catalytic P-intermediate in bovine cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
39. 佐々木歩惟、村本和優、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 X-ray structural analysis of catalytic F-intermediate in bovine cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
40. 吉川信也、村本和優、中林良太、前田友子、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武 X-ray structural analysis of catalytic O-intermediate in bovine cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
41. 月原富武、菅倫寛、村本和優、伊藤・新澤恭子、前田友子、山下栄樹、吉川信也 An X-ray structural evaluation of the possibility of chloride binding to the O₂ reduction site of bovine heart cytochrome *c* oxidase. 日本生物物理学会第48回年会 (同上)
42. Muramoto K, Ohta K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. Photo-dependent binding structures of CO and NO on the heme-copper site in bovine cytochrome *c* oxidase. *The 16th European Bioenergetics Conference* (Warsaw, Poland, 2010年7月17~22日)
43. Muramoto K, Ohta K, Shinzawa-Itoh K, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S. The O₂ reduction and proton pumping gate mechanisms of bovine heart cytochrome *c* oxidase. *The 16th European Bioenergetics Conference* (同上)
44. 村本和優、太田和宏、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 ウシチトクロム酸化酵素のヘム・銅部位におけるNO、COの光化学的結合解離構造 第10回日本蛋白質科学会年会 (札幌コンベンションセンター 札幌市, 2010年6月16~18日)
45. 村本和優、太田和宏、伊藤・新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也 ウシ心筋チトクロム酸化酵素の酸素還元反応とプロトンポンプゲート機構 第10回日本蛋白質科学会年会 (同上)
- [その他]
<http://www.sci.u-hyogo.ac.jp/edu/kenkyuu/base20.html>
- ミトコンドリアがエネルギー作る仕組み解明 (読売新聞 2010年4月26日)
- 食物→エネルギー 酵素で効率よく (朝日新聞 2010年4月13日)
- 呼吸酵素:働き解明 新抗生物質に道 (毎日新聞 2010年4月13日)
- 「呼吸酵素」構造 動物と細菌で異なる (産経新聞 2010年4月13日)
- 動物と細菌、呼吸酵素に差 (日本経済新聞 2010年4月13日)
- 呼吸酵素構造に違い (神戸新聞 2010年4月13日)
6. 研究組織
 (1)研究代表者
 村本 和優 (MURAMOTO, Kazumasa)
 兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・准教授
 研究者番号:50305679