

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 2 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26291033

研究課題名(和文) 水素原子レベルの時分割解析による呼吸鎖末端酸化酵素のプロトンポンプ機構の研究

研究課題名(英文) Studies on the proton pump mechanism of the terminal oxidase by time resolved analyses at the hydrogen atom level resolution

研究代表者

吉川 信也 (Yoshikawa, Shinya)

兵庫県立大学・生命科学研究科・名誉教授

研究者番号：40068119

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,800,000円

研究成果の概要(和文)：チトクロム酸化酵素は分子状酸素(O₂)の還元によりプロトンポンプを駆動して、ATP合成に利用されるプロトン濃度勾配を形成する、生命維持に最も重要な酵素の一つである。本研究により、X線自由電子レーザー設備を活用して、本酵素の(i) O₂還元中心の構造が決定され、(ii) O₂がO₂還元中心を構成している銅イオンに結合することによりプロトンポンプの逆流を遮断することが明らかされた。前者は50年来の懸案を解決するものであり、後者は前者とともに本酵素のエネルギー変換機構を水素原子レベルで解明するという生命科学研究者の夢を現実のものとするものである。

研究成果の概要(英文)：Cytochrome c oxidase, which is one of the most important enzymes for preserving the life, reduces molecular oxygen (O₂) coupled with proton pumping which creates the proton gradient for driving ATP synthesis by FoF₁ ATPase. By using the X-ray free electron laser facility, we have succeeded in (i) determination of the O₂ reduction site and (ii) showing that the pumping proton back leak is blocked by O₂ binding to a copper ion site included in the O₂ reduction site. The O₂ reduction site structure has been yet to be determined for the last 50 years. The latter accomplishment together with the former set a mile stone for elucidation of the mechanism of this enzyme at the hydrogen atom level resolution which is a dream of most of Life Scientist.

研究分野：生物化学

キーワード：呼吸鎖末端酸化酵素 プロトンポンプ 膜タンパク質 ヘムタンパク質 時分割X線構造解析

1. 研究開始当初の背景

(1) 「電子構造生物学」の当初の背景
タンパク質の機能中心を構成する原子(官能基)の空間配置と化学反応性の、生理過程(化学反応)の進行に伴う変化を高分解能で追跡し、タンパク質の生理機能の原子/電子の挙動としての解明を目指すことを電子構造生物学と命名する。タンパク質内部ではタンパク質外では実現が極めて困難な微小環境が形成されている。このような環境での生理過程(化学反応)は均一溶媒系での化学反応に基づいて構築された「化学」の語彙だけでは記述できない特性を持っており、これこそが、細胞の示す種々の高度な機能の原動力である。このような化学反応の機構解明には化学の語彙を増やす(化学を進歩させる)ことが必要となる。このようにして、「電子構造生物学」は生物学と化学の境界を消失させつつ、生命現象の本質に迫る強力な研究分野となる。

タンパク質の機能中心の原子の空間配置と化学反応性は、そのタンパク質の駆動する化学反応の進行に伴って時々刻々変化する。しかし、その変化を追跡できるような時分割解析法は開発されていなかったが、本研究開始当初 XFEL 施設により、フェムト秒レベルの時分割 X 線構造解析が可能であることが呼吸鎖末端酸化酵素の 1.9 Å 分解能の X 線構造解析により実証された。また我々は水溶液中のタンパク質に適用可能な超高感度時分割赤外分光装置を開発していた。

このようにタンパク質の機能中心の構造機能の高性能の時分割解析法が開発されていなかったという、電子構造生物学構築の最大の障壁はほぼ取り除かれていた。

(2) 「呼吸鎖末端酸化酵素のプロトンポンプ機構研究」の当初の背景

呼吸鎖末端酸化酵素(以下 CcO と略記)は O₂ を水にまで還元するとともにプロトン(以下 H⁺ と略記)をミトコンドリア内膜内側から外側へ能動輸送し(H⁺ポンプと呼ばれている)生じた H⁺濃度勾配は FoF1 ATP 合成酵素が ATP 合成に利用する。H-pathway(水素結合ネットワークと水分子が通過できる経路(水経路)で構成された経路)がウシ CcO の H⁺ポンプ経路であることが X 線構造および変異体解析により実証された。また本酵素の X 線構造は、O₂還元中心への電子供与体である heme a の酸化により生じた正荷電が H⁺ポンプの静電的駆動力となること、さらに O₂還元中心の heme a₃ への O₂結合によって水経路が閉鎖されることによって H⁺の逆流が防止されることを示している。さらにこの水経路の開閉と経路の構造変化によるプロトン取り込みの促進が酸素還元中心の Cu_Bによって制御されていることが上述の高感度時分割赤外分光解析により実証され、O₂還元中心も H⁺ポンプ駆動に寄与していることが示された。また NMR 解析は、エネルギー変換(H⁺/e⁻比)の高効率化のために電子伝達速度がチトクロム c によって制御されている事を示した。これらは H⁺ポンプ機構の本質に迫る重要な知見ではあるが、水素原子レベルの構

造情報が得られていないため、H⁺が H-pathway を通過することさえ直接には実証されてはいなかった。ウシ心筋 CcO の 1.25 Å 分解能(水素原子の決定可能)の構造解析に必要な X 線回折強度データが収集されていた。

2. 研究の目的

生体エネルギー変換の最も重要な過程の一つである呼吸鎖末端酸化酵素のプロトンポンプ機構を解明するためには酵素反応にともなう水素原子レベルの分解能の時分割構造(原子位置)機能(原子の化学反応性)解析が不可欠である。そこで、X 線自由電子レーザー(XFEL)による時分割 X 線構造解析と、捕捉可能な反応中間体の水素原子レベルの静的 X 線構造解析とにより、水素原子レベルの時分割構造変化を解析する。この構造変化に伴う機能中心の化学反応性の時間変化を、新規に開発した、水溶液に適用可能な時分割赤外分光設備により追跡する。これらの結果から、どのような機能の原子が、どこに配置されて、どのように協調してプロトンをポンプするかを演繹する。これを事例研究として、新規学問分野「電子構造生物学」の重要性を提示する。

3. 研究の方法

Caged O₂化合物を新規に設計合成し、新規に開発した時分割装置により O₂還元反応を可視及び赤外分光的に溶液及び結晶で解析する。赤外吸収帯の帰属は結晶の偏光赤外分光解析により行う。一方 O₂還元反応の H⁺ポンプと共役している過程に重点を置いて、X 線自由電子レーザー施設(SACLA)により時分割 X 線構造解析を行う(この H⁺ポンプ共役過程の出現、消失は可視分光により追跡する。)さらに、種々の捕捉可能な酸素還元反応中間体やそのモデルである呼吸阻害剤結合型の水素原子レベルの静止 X 線解析により時分割 X 線解析結果を補足し水素原子レベルの構造変化を導出する。これらの時分割 X 線解析(原子位置)及び時分割赤外分光解析(原子の化学反応性)実験結果を理論解析も活用して精査し H⁺ポンプ機構を原子/電子の挙動として演繹する。

4. 研究成果

(1) 静止 X 線回折データのみにもとづく X 線構造解析法の開発(SACLA では振動写真の測定は不可能であるためこの方法が不可欠である。)と XFEL 照射による周辺の X 線損傷範囲の精密測定等を行い休止酸化型の無損傷 X 線構造を 1.9 オングストローム分解能で決定した。これはフェムト秒レベルの時分割 X 線構造解析が可能であることを示す歴史的成果と世界的に認められている。また休止酸化型 CcO の無損傷構造の決定は、この構造の長年にわたる議論に終止符を打つだけではなく CcO のプロトンポンプ機構解明に大きく貢献する成果といえる(Nature Methods に発表)。

(2) HigD1a のプロトンポンプ機能促進を示唆する結果(PNAS に発表)は医学的、細胞

生物学的重要性に加えて、HigD1a がプロトンポンプ機構の解明のための重要な probe として機能する可能性を示すものである。

(3) O₂ 還元中心の機能解析のためアジ化物結合型 CcO の構造を X 線構造解析とラマン分光法により解析し 2 当量を受容できることが認められた。また、高分解能 X 線構造解析により、プロトン輸送経路からのプロトンの流出により heme a の電子親和性が低下することが明らかにされ、プロトンが heme a に駆動されていることが実験的に示された。

(4) 質量分析により CcO への不安定なリン酸化、アセチル化部位が多数発見された (PNAS に発表)。また 2 量体形成機構への脂質の関与が証明された (PNAS に発表)。

(5) チトクロム c/CcO 複合体の 3 次元構造解析から明らかにされた複合体形成機構は、プロトンポンプにはチトクロム c (cyt.c) からの制御された電子伝達が不可欠であるので、プロトンポンプ機構解明に大きく貢献することが期待できる。結合した cyt.c の温度因子は結合部位に近いほど低くなっていた。これは複合体形成によるエントロピー減少の補償に寄与しているといえる。また、三層の水分子配列形成による複合体の安定化は、エネルギー変換効率の最適化に大きく寄与していると考えられるがこのような例は他には知られていない。(EMBO J に発表)。

(6) Cyt.c/CcO 間電子伝達に及ぼす Cyt.c のアミノ酸変異効果に基づいて代謝回転中の Cyt.c/CcO 複合体形成機構が理論的に解析された。複合体界面のアミノ酸残基の結合の熱力学はむしろ複合体の不安定化に寄与する残基の存在を示唆している (JBC 発表済)。

(7) CcO のプロトンポンプは heme a の正荷電とプロトンとの静電的反撥により駆動される。その方向性決定機構の解明のため、CO 結合型 CcO の光解離過程の X 線自由電子レーザー設備 (SACLA) を利用した時分割構造解析を行った。その結果、Cu_B に結合した O₂ がポンププロトン輸送経路を閉鎖して逆流を防ぐことが明らかにされた。また Cu_B とプロトン輸送経路の開閉を行うアミノ酸残基とを連携させるリレーシステムの作動に遅れが認められた。このような実験事実は SACLA でしか発見できないと言える (Science Advances, accepted)。

(8) CO-flash photolysis 法による CcO の O₂ 還元過程の赤外分光解析のための装置 (蛋白濃度 20% 程度の高濃度溶液を 50 μm 程度の光路長のセルを高速で通過させる装置) の開発を完了した。可視分光により中間体生成過程を確認し、COOH 基領域の時分割赤外分光解析に成功した。完全還元型 CcO による O₂ 還元過程の解析によりこれまでに検出されている第 2 (P)-第 3 (F) 中間体の遷移の途中に新たな COOH バンドが検出された。(完全還元型 CcO による O₂ 還元過程では完全還元型 (R) が O₂ を受容し、酸素化型 (A) を形成し順次 P, F, O 中間体が形成され、O₂ は完全還元さ

れる。)

(9) 静止 X 線構造解析により 4 プロトン受容機能を示唆させる Mg イオンを含む巨大な (23 個の水分子を含む) 水クラスターが発見された。これは P-side へも O₂ 輸送経路へもプロトン交換可能な連結は認められず、短い水素結合ネットワークにより H-pathway の水素結合ネットワークに連結されている。また水分子の酸化還元による位置の変化は認められるが総数に変化はなかったため、クラスター内の水分子は可動であるが外部とは交換しないことを示している。(JBC に発表)

(10) F 中間体、O 中間体を結晶中で調製し X 線構造を決定した。結晶中では溶液中と明らかに異なった反応過程を示し、また他の中間体の形成を完全に防止することには成功しなかった。そこで複数の構造の混在している電子密度から正確に目的の構造を決定する方法を開発し、高分解能での構造決定に成功した。その結果両中間体ともにポンププロトン輸送経路は閉構造であることが示された。また、Cu_B²⁺-OH-構造が実験的に証明された。(11) 代謝回転中の CcO/cyt.c 複合体形成に及ぼす浸透圧効果の解析に基づいて、複合体形成に伴う脱水和の定量的解析を行い、両タンパク質の構造から予想されるよりはるかに少ない脱水和が観測された。

(12) 1.35 angstrom 分解能の X 線構造解析により Carboxyl group のプロトン化状態が C-O 結合距離の違いから間接的にはあるが決定できることが明らかになった。この結果は、本酵素のプロトンポンプ機構を原子の挙動として水素原子レベルでとらえることが現実的研究課題と見做せる段階に到達していることを示している。

(13) Caged O₂ の設計合成。これまで Caged O₂ は CcO 溶液の Stopped flow 解析に利用されてきた。しかし、時分割 X 線構造解析には還元剤が過剰に存在する条件で結晶に浸み込ませてからポンププローブ測定装置に嫌気条件下で移送しなければならない。既報の化合物は光や還元剤に敏感で上述の目的には安定性が不十分であることが明らかになった。そこで新規化合物をいくつか設計合成し安定性と量子収率の改善に努力した。現在光感受性の低い化合物はいくつか得られているが還元剤感受性の問題は解決するべく新規化合物の設計合成に努力している。

(14) P 中間体結晶の調製と X 線構造解析。H₂O₂ 濃度の調整により可視吸収を指標として、P 中間体結晶調製条件を検討した。完全還元型 R の混入が顕著であるため高分解能解析は不可能であったため、CO/O₂ 等モル混合気体による調整を試みたが再現性の向上が必要であることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- 1 Shimada, S., Shinzawa-Itoh, K., Baba, J., Aoe, S., Shimada, A., Yamashita, E., Kang, J.,

- Tateno, M., Yoshikawa, S., Tshukihara, S., Complex structure of cytochrome c-cytochrome c oxidase reveals a novel protein-protein interaction mode, *EMBO J.*, 査読有, 36, 291-300, 2017
DOI:10.15252/embj.201695021
- 2 Osuda Y, Shinzawa-Itoh K, Maeda S, Yoshikawa S, Tsukihara T, Gerle C., Two dimensional crystallization of monomeric cytochrome c oxidase with bound cytochrome c in reconstituted lipid membranes, *Microscopy*, 査読有, 65, 263-267 2016
DOI:10.1093/jmicro/dfv381
- 3 Sato N, Hitaoka S, Inoue K, Imai M, Uchida T, Shinzawa-Itoh K, Yoshikawa S, Yoshizawa K, Ishimori K, Energetic Mechanism of Cytochrome c – Cytochrome c Oxidase Electron Transfer Complex Formation under Turnover Conditions Revealed by Mutational Effects and Docking Simulation, *J. Biol. Chem.*, 査読有, 291, 15320-15331, 2016
DOI:10.1074/jbc.M115.708065
- 4 Yano, N., Muramoto, K., Shimada, A., Takemura, S., Baba, J., Fujisawa, H., Mochizuki, M., Shinzawa-Itoh, K., Yamashita, E., Tsukihara, T. Yoshikawa, S., The Mg²⁺-containing water cluster of mammalian cytochrome c oxidase collects four pumping proton equivalents in each catalytic cycle, *J. Biol. Chem.*, 査読有 291, 23882-23894, 2016
DOI:10.1074/jbc.M115.711770
- 5 I. Liko, M. Degiacomi, S. Mohammed, S. Yoshikawa, C. Schmidt and C. V. Robinson, Dimer Interface of Bovine Cytochrome c Oxidase is influenced by local posttranslational modifications and lipid binding, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有、113, 8230-8235, 2016
DOI: 10.1073/pnas.1600354113
- 6 Yano N. Muramoto K, Mochizuki M, Shinzawa-Itoh K, Yoshikawa S, Tsukihara T, X-ray structure of cyanide-bound bovine heart cytochrome c oxidase in the fully oxidized state at 2.0 Å resolution, *Acta Crystallogr F*, 査読有, 71, 726-730, 2015
DOI:10.1107/S2053230X15007025
- 7 Hikita, M., Yamamoto, A., Shinzawa-Itoh, K., Ogura, S., Yoshikawa, S., Stepwise binding of two azide ions to the O₂-reduction site of bovine heart cytochrome c oxidase by resonance Raman analyses, *Chem. Lett.*, 査読有, 44, 1142-1144, 2015
DOI:10.1246/cl.150384
- 8 T. Hayashi , Y. Asano , Y. Shintani , H. Aoyama , H. Kioka , O. Tsukamoto , M. Hikita , K. Shinzawa-Itoh , K. Takafuji , S. Higo , H. Kato , S. Yamazaki , K. Matsuoka , A. Nakano , H. Asanuma , M. Asakura , T. Minamino , Y. Goto , T. Ogura , M. Kitakaze , I. Komuro , Y. Sakata , T. Tsukihara , S. Yoshikawa , S. Takashima, Higd1a is a positive regulator of Cytochrome c Oxidase, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 査読有、2015, 112, 1553-1558
DOI:10.1973/pnas/1419767112
- 9 Yoshikawa, S., Shimada, A. Reaction mechanism of cytochrome c oxidase. *Chem. Rev.* 査読有、2015, 115, 1936-1989
DOI: 10.1021/cr500266a
- 10 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 XFEL, *Nat. Methods.* 査読有、2014, 11, 734-736.
DOI:10.1038/NMETH.2962
- 11 Nomura, T., Yanagisawa, S., Shinzawa-Itoh, K., Yoshikawa, S., and Ogura, T., Effects of Proton Motive Force on the Structure and Dynamics of Bovine Cytochrome c Oxidase in Phospholipid Vesicles, *Biochemistry*, 査読有、2014, 53, 6382–6391.
DOI:10.1021/bj501022j
- [学会発表](計26件)
- 1 S. Yoshikawa, Reaction mechanism of cytochrome c oxidase, IGER International symposium on Physics of Life, March 25-26, 2017, ES hall, Nagoya University (愛知県名古屋)
- 2 L. Fangja, A. Shimada, K. Yamashita, K. Hirata, Y. Yamamoto, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, Processing of XFEL still images with a reference oscillation data set for crystal structural analyses of cytochrome c oxidase, 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25-27日、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
- 3 T. Tsukihara, A. Shimada, N. Yano, K. Muramoto, K. Shinzawa-Itoh, E. Yamashita, S. Yoshikawa, Detailed crystal structural studies of bovine cytochrome c oxidase to elucidate the coupling of dioxygen reduction and proton pumping, 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25-27日、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
- 4 H. Kagaya, W. Sato, T. Uchida, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, K. Ishimori, Interaction analysis of electron transfer complex formation between cytochrome c –cytochrome c oxidase fluorescence anisotropy, 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25-27日、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
- 5 W. Sato, K. Shinzawa-Itoh, T. Uchida, P.

- Brezezinski, S. Yoshikawa, K. Ishimori, Functional significance of dehydration for formation of electron transfer complex between cytochrome c and cytochrome c oxidase. 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25-27日、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
- 6 A. Shimada, N. Yano, K. Muramoto, E. Yamashita, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, High-resolution structure of cytochrome c oxidase reveals the mechanism of highly efficient proton pumping. 第54回日本生物物理学会年会、2016年11月25-27日、つくば国際会議場(茨城県・つくば市)
- 7 S. Yoshikawa, The Mg²⁺-containing water cluster of mammalian cytochrome c oxidase collects four pumping proton equivalents in each catalytic cycle, Invited Lecture EBEC 2016, 19th European Bioenergetics Conference, July 2-7, 2016, Riva del Garda (Italy).
- 8 L. Fangja, A. Shimada, K. Yamashita, K. Hirata, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, Processing of XFEL still images with a reference oscillation data set for crystal structural analyses of cytochrome c oxidase. 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 9 K. Hatano, A. Shimada, A. Miyamoto, S. Baba, K. Yamashita, M. Kubo, H. Ago, K. Hirata, G. Ueno, H. Murakami, M. Yamamoto, T. Kumasaka, E. Yamashita, T. Ogura, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Tsukihara, Time-resolved crystallographic analysis of cytochrome c oxidase using X-ray free electron laser. 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 10 A. Miyamoto, A. Shimada, K. hatano, S. Baba, T. Kumasaka, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, Development of thawing method of frozen protein crystals for high resolution crystal structure analysis at room temperature. 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 11 Y. Eto, A. Shimada, E. Yamashita, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, X-ray crystal structure of F-intermediate of cytochrome c oxidase at 1.6 angstrom resolution. 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 12 S. Nakashima, Y. Nakagawa, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Ogura, Dynamics of the reaction site of cytochrome c oxidase studied by time-resolved resonance Raman spectroscopy, 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 13 A. Shimada, J. Baba, E. Yamashita, K. Muramoto, K. Shinzawa-Itoh, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, the proton pump mechanism suggested from the crystal structures of cytochrome c oxidase and their derivatives, 日本蛋白質科学会第16回年会、2016年6月7-9日、福岡国際会議場(福岡県・福岡市)
- 14 波多野啓太、宮本朱梨、島田敦広、馬場清喜、熊坂崇、伊藤一新澤恭子、月原富武、吉川信也、Development of high resolution X-ray diffractin experiments at room temperature, 第53回日本生物物理学会年会、2015年9月13-15日、金沢大学角間キャンパス(石川県・金沢市)
- 15 江藤勇樹、島田敦広、原史剛、山下栄樹、伊藤一新澤恭子、月原富武、吉川信也、X-ray structural analysis of O intermediate of bovine heart cytochrome c oxidase, 第53回日本生物物理学会年会、2015年9月13-15日、金沢大学角間キャンパス(石川県・金沢市)
- 16 江藤勇樹、島田敦広、前田友子、山下栄樹、村本和優、伊藤一新澤恭子、月原富武、吉川信也、X-ray structural analysis of O intermediate of bovine heart cytochrome c oxidase, 第15回日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール(徳島県・徳島市)
- 17 島田敦広、矢野直峰、武村秀平、村本和優、山下栄樹、伊藤一新澤恭子、前田友子、月原富武、吉川信也、チトクロム酸化酵素内のMgを含む水クラスターが酸素取り込み前に4当量のプロトンを蓄積することで、高効率プロトンポンプ反応を可能にする、第15回日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール(徳島県・徳島市)
- 18 波多野啓太、島田敦広、引田理英、蓼原瞳、山本旭麻、山下栄樹、前田友子、伊藤一新澤恭子、月原富武、吉川信也、チトクロム酸化酵素の真のアジ化物イオン結合型構造により明らかになった、酸素還元中心の構造変化とプロトンポンプ経路の関係性、第15回日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール(徳島県・徳島市)
- 19 馬場淳平、島田敦広、山下栄樹、村本和優、伊藤一新澤恭子、月原富武、吉川信也、シアン結合型完全還元型チトクロム酸化酵素のX線構造解析により明らかになった、酸素還元中心の構造変化とプロトンポンプ経路の関係性、第15回日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール(徳島県・徳島市)
- 20 C. Li, T. Nishiguchi, K. Shinzawa-Itoh, S. Yoshikawa, T. Nakashima, T. Ogura, Newly developed system of time-resolved IR spectroscopy for elucidating the proton pumping reaction of cytochrome c oxidase, 第15回日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール(徳島県・徳島市)

- 21 S. Yoshikawa, N. Yano, A. Shimada, K. Muramoto, S. Takemura, K. Shinzawa-Itoh, E. Yamashita, T. Tsukihara, Collection of 4 pumping-proton equivalents into Mg²⁺ containing water cluster of cytochrome c oxidase, revealed by X-ray analyses, Bioenergetics, Gordon Research Conferences, 2015年6月21-26日, Proctor Academy, Andover, NH(USA)
- 22 M. Imai, W. Sato, K. Shinzawa-Itoh, T. Uchida, S. Yoshikawa, K. Ishimori, ミトコンドリア呼吸鎖のチトクロムc-チトクロムc酸化酵素複合体における電子伝達反応の制御機構、第52回日本生物物理学会年会、2014年9月25-27日、札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
- 23 A. Shimada, M. Hikita, H. Tadehara, A. Yamamoto, E. Yamashita, K. Shinzawa-Itoh, T. Maeda, T. Tsukihara, S. Yoshikawa, アジ化物結合型チトクロム酸化酵素の高分解能X線結晶構造解析によるアジ化物結合様式の解析、第52回日本生物物理学会年会、2014年9月25-27日、札幌コンベンションセンター(北海道・札幌市)
- 24 S. Yoshikawa, N. Yano, A. Shimada, K. Shinzawa-Itoh, K. Muramoto, E. Yamashita, T. Tsukihara, Improved X-ray structures of bovine heart cytochrome c oxidase reveal redox-driven proton active transports by Mg²⁺ containing water cluster, European Bioenergetics Conference (EBEC) 2014年7月12-17日、Lisbon (Portugal)
- 25 馬場淳平、島田敦広、山下栄樹、武村秀平、前田友子、村本和優、伊藤一新澤恭子、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、2014年6月25-27日、ワークピア横浜/横浜産貿ホールマリネリア(神奈川県・横浜市)
- 26 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、伊藤一新澤恭子、山下栄樹、月原富武、吉川信也、CN結合型および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、2014年6月25-27日、ワークピア横浜/横浜産貿ホールマリネリア(神奈川県・横浜市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉川 信也 (YOSHIKAWA, Shinya)
 兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・特任教授
 研究者番号：40068119

(2) 研究分担者

なし。

(3) 連携研究者

石森 浩一郎 (ISHIMORI, Koichiro)
 北海道大学・大学院理学系研究院・教授
 研究者番号：20192487

館野 賢 (TATEN0, Masaru)
 兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・教授
 研究者番号：40291926

新澤 伊藤 恭子 (SHINZAWA-ITOH, Kyoko)
 兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・准教授
 研究者番号：70206316

久保 稔 (KUBO, Minoru)
 独立行政法人理化学研究所・城生体金属科学研究室・研究員
 研究者番号：90392878

玉田 太郎 (TAMADA, Tarou)
 独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究主幹
 研究者番号：50391248

御前 智則 (MISAKI, Tomonori)
 兵庫県立大学・大学院物質理学研究科・助教
 研究者番号：00411786

(4) 研究協力者

なし。