

令和 4 年 5 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05694

研究課題名(和文)プロトン構造とゆらぎの解析による銅アミン酸化酵素補酵素生成機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of quinone cofactor biogenesis in copper amine oxidase on the basis of proton structures and flexibility analysis

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) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、Arthrobacter globiformis由来銅含有アミン酸化酵素(AGO)の自己触媒的な補酵素トバキノ(TPQ)の生成反応を対象として、酵素触媒反応に果たす金属イオンの役割の一端を詳細に解明することを目的とする。TPQ形成反応の初期に、TPQ前駆体Tyr残基において作り出されるligand-metal charge transfer(LMCT)中間体状態が作り出されることを、実験的に始めて証明した。また、反応中間状態を示す金属イオン結合型構造の中性子構造解析にも成功し、活性中心の残基のプロトン化状態に重要な知見を得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

銅アミン酸化酵素のTPQ形成反応において、分子全体のゆらぎの存在が重要であることが判明した。加えて、ligand-metal charge transfer(LMCT)中間体を含む各種の金属結合型反応中間体構造のX線結晶構造や中性子構造など、新規な構造情報を決定することができた。とりわけ、中性子構造は活性中心残基のプロトン座標について、実験的に明らかにすることに成功した。得られた結果は、銅アミン酸化酵素をベースとして、新規な酸化反応を引き起こす活性中心構造を作り出すために重要な情報となった。

研究成果の概要(英文)：Aim of this study is to elucidate roles of metal ions on self catalytic cofactor biogenesis in copper amine oxidase from Arthrobacter globiformis. This study experimentally clarified that ligand-metal charge transfer(LMCT) intermediate is formed on a TPQ-precursor tyrosine residue at the early step of the biogenesis reaction. Neutron crystallography determined the structures including proton coordinates, providing important information about the situation of the precursor Tyr residue when that is activated by metal binding.

研究分野：生化学

キーワード：結晶構造解析 翻訳後修飾 ゆらぎ 補酵素 補酵素

1. 研究開始当初の背景

自然界に存在する酵素タンパク質のうち、純粋にペプチドのみから構成されているものはほとんどなく、多くが何らかの補欠因子をもつことが知られている(1)。補欠因子として、NADH のような有機低分子、すなわち補酵素に加え、様々な金属イオンがあり、触媒反応に必須な役割を果たしている。金属イオンは、タンパク質構造の安定化や電子の受容体・供与体として機能するばかりでなく、特に遷移金属では、電子の授受によって、基質の電子状態を不安定化し、あるいは遷移状態を安定化することで、触媒反応の進行に積極的に関与する。金属錯体における電子移動は、金属・配位子間での内圏型電子移動反応と、錯体の外側での外圏型電子移動反応に分けられるが、金属イオンの特性によって、その2つは酵素反応において巧妙に使い分けられている。

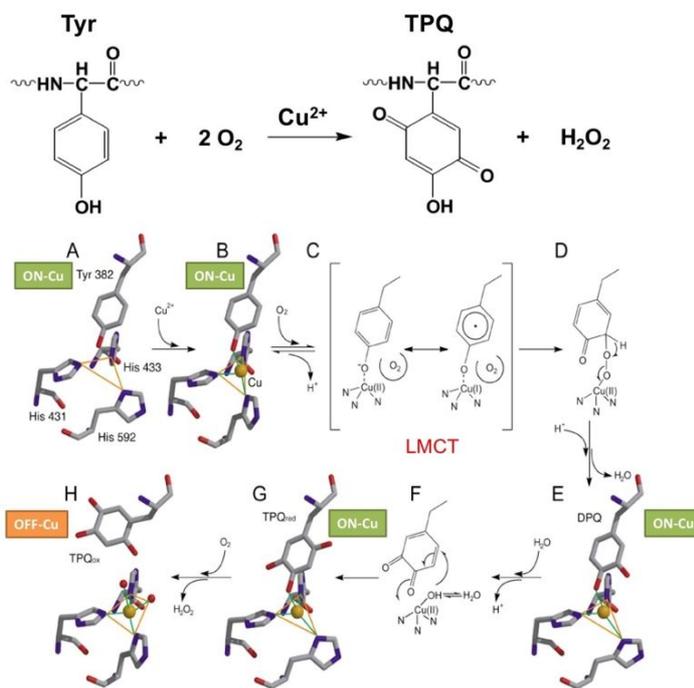


Fig.1. 銅アミン酸化酵素の補酵素形成の反応式(上)と生成機構(下)

本研究の研究対象である銅アミン

酸化酵素は、活性中心に酸化還元補酵素トパキノン(TPQ)と銅イオンを含有し、一級アミン類の酸化脱アミノ反応を触媒する。様々な生物種に普遍的に存在し、生理活性アミンの消去など必須の役割を担っている。大きな特長として、補酵素 TPQ が、ペプチド上のチロシン残基から酵素の自発的酸化作用によって生成される点にある(2)。その過程には他の修飾タンパク質は関与せず、2 価銅イオンと酸素分子しか必要とされない。研究代表者は、これまでに *Arthrobacter globiformis* 由来酵素 (AGAO) を用いて、多段階ステップを通じて TPQ 形成が形成されていることを詳細に解明してきた(Fig. 1) (3)。本反応は典型的な銅イオンの内圏型電子移動反応であった。しかし、活性中心は単一の銅イオンが保持され、単純な配位構造であるにもかかわらず、銅イオンの役割や機能は十分に解明されているとは言い難い。とりわけ銅イオンが関わる初期反応過程については、ほとんど未解明である。このステップで、銅イオンはその強いLewis酸性によって配位した前駆体チロシン残基から電子を吸引し、電子不足の状態を作り出す。すなわち Ligand metal charge transfer (LMCT) 中間体が形成され、さらに酸素と反応する (Fig.2、パネル C、D)。一般的に、ガラクトース酸化酵素などの研究から LMCT 形成には、チロシン残基と銅イオン間の距離が、2.0 程度の短い距離となることが推定されている(4)。しかし、AGAO 結晶中で同様な反応中間体状態を作り出しても、銅との距離が 2.6 と遠いことが結晶構造から判明している(3)。実際、結晶中および溶液中でも、電子移動による LMCT 形成は全く観測されていなかった。極めて短寿命なのか、あるいは酸素分子の結合に伴う再配置によって、チロシン残基が銅イオンに近接する可能性も示唆されてきた。LMCT 形成に関して何らかの量子化学的な効果や分子のゆらぎの変化が果たす役割も検討される必要があった。このような状況の中、活性中心から離れた4つの変異を導入した変異型酵素 N81Q/C315S/N340Q/C636S(4M-AGAO)の補酵素形成において、LMCT 形成を示唆する 400 nm 中間体 (M1) が形成されることがわかった。検出された M1 中間体を解析することを通じて、LMCT 中間体の実体に迫ることが期待された。

2. 研究の目的

本研究は、AGAO を対象として、銅含有アミン酸化酵素の自己触媒的な補酵素生成反応を通じて、酵素触媒反応に果たす金属イオンの役割を解明することを目的とする。4M-AGAO で蓄積する電荷移動中間体(LMCT 中間体)のプロトン座標とゆらぎの情報を中性子・X 線結晶構造解析によって決定し、それを基盤に速度論解析と計算化学による解析からその形成機構を理解する。最終的に、AGAO の活性中心を内圏反応場と捉え、解明された LMCT 中間体形成機構をもとに、チロシン類似化合物を基質として酸化反応を引き起こす新規反応場の構築を試みる。内圏型電子移動反応を利用した触媒部位の構築による人工的な金属酵素の構築ができれば、金属酵素の機能改変や機能性低分子設計など様々な応用も期待できる。

3. 研究の方法

4つの変異を導入した変異型酵素 4M-AGAO の補酵素形成において検出された 400 nm 中間体の実

体を解明する。補酵素および中間体の検出はフォトダイオードアレイ分光光度計によって、分光スペクトルの継時変化を追跡することによって行った。SH 基の定量は DTNB (5,5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic Acid)) を用いて行った。反応途上で共鳴ラマン分光測定を行うことによって、ラジカル形成の有無および生成分子種を同定する。また、4 つの変異 (N81Q、C315S、N340Q、C636S) のうち、どの変異が 400 nm 中間体の形成に寄与するのか明らかにするため、構成する単一変異体や複数組み合わせた変異体の補酵素形成反応を解析した。また、中間体形成の pH 依存性の詳細な解析を行い、関与する解離性残基を推定した。構造解析実験については、野生型および変異型 AGAO は微量透析法を用いて結晶化し、そのままクライオ条件下でフリーズトラップして、X 線回折データを得た。中間体構造を得る場合には、銅イオンや亜鉛イオンを嫌気条件下ソーキングしたのち、中間体が蓄積した状態を液体窒素でフリーズトラップした。野生型、4M-AGAO のアポタンパク質では、すでに中性子構造解析に適した大型結晶の調製が可能であり、野生型酵素では、中性子構造解析による構造決定を終えている。そこで、4M-AGAO (あるいは前項の必要最低限の変異体) と野生型酵素において、銅イオンや亜鉛イオンを嫌気条件下ソーキングしたのち、中間体が蓄積した状態を液体窒素でフリーズトラップした。クライオ条件下収集された中間体結晶の中性子回折および X 線回折データから、Phenix を用いた Joint refinement によって構造精密化を行い、中性子構造を決定した。中間体結晶の反応状態は、結晶顕微分光測定によってチェックした。これらの結果より、4M-AGAO において LMCT 中間体が形成する理由を構造面から解明しようとした。

4. 研究成果

(1) 4M-AGAO ならびに関連変異型 AGAO の分光学的、速度論的および生化学的解析

分光学的、速度論的解析。大気条件下、アポ型 4M-AGAO を銅イオン溶液と混合し、TPQ 形成反応を引き起こした。その吸収スペクトル変化をストップフロー測定した結果、M1 中間体が形成されていることがわかった。加えて、約 70 s で 400 nm の吸光度、すなわち M1 中間体含量が最大となり、その後 TPQ に変換されることがわかった。また、M1 の吸収スペクトルは、Tyr ラジカルのモデル化合物の吸収スペクトルと類似していることがわかった。加えて、4M-AGAO においてアポ酵素に銅イオンを混合し、その直後からの積算回数 60 回の共鳴ラマンスペクトルを測定し、さらにホ口化後の共鳴ラマンスペクトルを測定して、両者の差スペクトルを求めた。解析したグラフから 1457 cm^{-1} 付近にブロードなピークがみられた。このシグナルの位置は、チロシンラジカルに特異的なラマン散乱の位置 $\sim 1500\text{ cm}^{-1}$ にほぼ一致しており、反応直後にチロシンラジカルが存在することを強く支持した。すなわち、4M-AGAO では、Tyr 残基が銅原子に配位し、電子供与する LMCT 状態が安定化されていると考えられた。バッファの pH を 6.0、7.0、8.0、9.0、10.0 に調製し、4M-AGAO と銅イオンを反応させた結果では、得たスペクトルから pH 7.0 および 8.0 付近において反応中間体が安定的に生成される可能性が示唆された。このような中間体形成量が大きく pH に依存するのは、中間体形成に寄与している残基のプロトン解離状態が変化していることが考えられる。おそらく、前駆体 Tyr382 あるいは銅イオンに配位する His 残基がそれに該当すると考えられた。

変異導入による各残基の役割の解析。TPQ 形成初期反応に形成されると考えられる M1 中間体の実体をより詳細に解明するため、変異導入実験を行い、4 つの変異のうちいずれの変異が M1 中間体の形成に必要な変異導入実験を行った。TPQ 形成初期における 400 nm 近紫外吸収帯の存在を指標とした結果、候補であった 4 つの変異のうち 2 つ C315S と C636S を含む変異体 (2M-AGAO) において LMCT 中間体の形成を再現することができた (Fig. 2)。単一の変異体および他の二重変異体では中間体は形成されなかった。したがって、Cys315 と Cys636 の 2 残基が中間体形成に関与していることが明らかになった。2M-AGAO において、さらに活性中心である TPQ 前駆体 Tyr382 を Phe に置換した変異体や同じく活性中心の一つである His592 を Ala に置換した変異体を調製し TPQ 形成反応を分光学的に追跡した。その結果、M1 中間体も TPQ も形成されなかった。すなわち、活性中心以外の部位は無関係で、活性中心の Tyr 残基や His 残基が中間体形成に関与していることを明らかにできた。

Cys315 と Cys636 の 2 残基の関わりはこれまで全く明らかにされていなかったが、SH 含量の定量実験の結果、野生型酵素にはほとんど SH 基は含まれていないことがわかった (約 0.05 (/subunit))。後述するように、これまでの構造解析を再度精査したところ、Cys315 と Cys636 がジスルフィド結合を形成しているという結果とも一致した。一方で、2M-AGAO には 0.75 (/subunit)、4M-AGAO には 0.57 (/subunit) の SH 基が定量された。野生型 AGAO では残存する Cys317 と Cys343 は分子内に埋もれておりかつ近接しているため、ジスルフィド結合が形成され

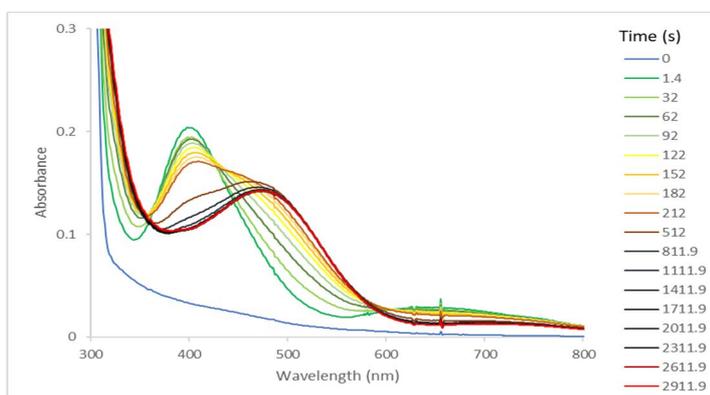


Fig. 2. 2M-AGAO の TPQ 形成の吸収スペクトル変化 (pH7.0)

ていることがすでに明らかにされている。一方で、この定量結果は、M1 中間体を観測できた 2M-AGAO と 4M-AGAO では、分子内部のジスルフィド結合(Cys317-Cys343)の一部がうまく形成できていないことを示した。この結果は、後述する構造解析の結果とも一致した。

(2) 4M-AGAO ならびに関連変異型 AGAO の構造解析

M1 中間体の X 線結晶構造。M1 中間体の構造情報を得るため、嫌気条件下の様々な pH において、銅イオンソーキングした 4M-AGAO 結晶の X 線結晶構造解析を行なった。その結果、いずれでも Tyr382 に銅イオンに配位した中間体構造を得ることができた。顕微分光測定によって、結晶は 400 nm 可視吸収を示すものの、野生型酵素と大きな構造の違いは認められなかった。pH 上昇によって Tyr382 と銅イオン間の距離(約 2.8-3.1 Å)は短くなる傾向があったが、LMCT が生じうる 2.0 Å より大きく、電子移動の原因とは考えられなかった(Fig. 3)。そのため、4 つの変異は大きな構造変化を与えるのではなく、タンパク質全体のゆらぎに影響を与えているのかもしれないと考えられた。それによって、コンフォメーション変化を含む TPQ 形成の反応速度に影響している可能性が高いものと考えられる。そこで、4M-AGAO および 2M-AGAO の分子全体の構造を詳細に検討したところ、いずれも Cys636 を含む C 末 10 残基のコンフォメーションが大きく変化していることがわかった。C 末 10 残基は、分子表面上の溝になっていた領域に新たに シートのひとつのストランドとして結合していることがわかった。さらに、分子内部にある Cys317-Cys343 間のジスルフィド結合が少なくとも部分的に切断されていることが判明した。一方、野生型酵素でも C 末端領域の構造を詳細に検討したところ、フレキシビリティが高いために、Cys636 は明確には見えていなかったが、C 末端領域がルーブアウトして、Cys315 とジスルフィド結合を形成していることがわかった。Cys317-Cys343 間のジスルフィド結合には部分的な開裂は全く認められなかった。これらのジスルフィド結合の違いは生化学的な定量実験とも一致していた。このような構造変化は分子全体のゆらぎを大きく変化させ、それにより活性中心のコンフォメーション変化が遅くなることで AGAO の TPQ 形成の際の反応速度の変化に寄与する可能性がある。その結果、野生型酵素では蓄積することのない LMCT 中間体を観測できるようになることが解明された。

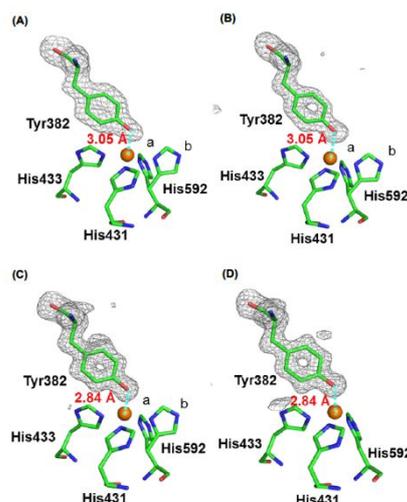


Fig. 3. 2M-AGAO 活性中心構造。(A) pH 6.0, (B) pH 7.0, (C) pH 8.0, (D) pH 9.0

中性子構造解析によって得られた活性中心残基のプロトン化状態。TPQ 形成機構におけるアポ型酵素のプロトン化状態の重要性を解析するため、AGAO の Cu 結合型および Zn 結合型野生型アポ酵素の高分解能中性子構造解析を実施した。Zn 結合型アポ酵素では、嫌気下の Cu 結合型と同じような立体構造をとるが、好気条件下においても TPQ が全く形成されないことが判明している。Cu と Zn は金属イオンとして類似した特性も有する。そこで、TPQ の前駆体となる Tyr382 のプロトン化状態に着目して、中性子結晶構造解析を行った。中性子構造解析では、重水素原子あるいは水素原子を直接的に観測できるので、Tyr382 のプロトン化状態に関して、直接的な情報が得られる。その結果、Cu 結合型では、Tyr382 は複数のコンフォメーションをもつと同時に、側鎖の 4-OH 基は完全にプロトン化していることがわかった。これらの結果は、Cu 結合型酵素の Tyr382 は Cu イオンには配位しておらず、ある程度のゆらぎを有した構造をもつことがわかった。一方、TPQ を形成しない Zn 結合型アポ酵素では Tyr382 は Zn イオンに直接配位する単一のコンフォメーションしか持たず、ほぼ固定した構造を有していた。側鎖 4-OH 基のプロトンもほぼ解離していた。以上の結果は、Tyr382 のゆらぎが TPQ 形成の少なくとも初期反応に寄与していることがわかった。2M-AGAO や 4M-AGAO では、C 末端領域や分子内部にある Cys317-Cys343 間のジスルフィド結合の部分的に切断などによる分子全体へ影響があり、それによって、Tyr382 の環境に影響した可能性が示唆された。

(3) 以上の結果に基づいて、各種化合物の酸化反応場を構築するため、2M-AGAO をベースとして、TPQ 形成反応の初期に、TPQ 前駆体 Tyr 残基において作り出される LMCT 中間体状態を、別なりガンドに対して引き起こすべく、活性中心を再構成した変異型酵素を作り出した。現時点ではまだ明確な酸化反応はないものの、新規な活性中心構造を作り出すべく重要な分子基盤を作り出すことに成功した。また、分子全体のゆらぎの変化を引き起こす AGAO の分子表面の 2 つの Cys 残基(C315S, C636S)について、本研究では、Cys315 と Cys636 との間のジスルフィド結合を破壊すると、636 位を含む C 末端領域が屈曲せず、シートの一部として分子表面に結合していることを示している。このとき、同時に分子内部の Cys317-Cys343 間のジスルフィド結合の部分的な切断が起きる理由は、AGAO タンパク質のフォールディング時の分子内ジスルフィド結合形成に、Cys315 と Cys636 (あるいはそのジスルフィド結合)との交換反応が形成に寄与していることも推測された。これも最終的に新たな酸化反応性を作り出す上でも有益な情報となった。

<引用文献>

1. 岡島 俊英、中井 忠志、谷澤 克行、ビルトイン型補酵素の構造、機能と生合成機構、生化学、83、2011、691 - 703
2. R. Matsuzaki, T. Fukui, H. Sato, Y. Ozaki, K. Tanizawa, Generation of the topa quinone cofactor in bacterial monoamine oxidase by cupric ion-dependent autooxidation of a specific tyrosyl residue, FEBS Lett., 351, 1994, 360 - 364
3. M. Kim, T. Okajima, S. Kishishita, M. Yoshimura, A. Kawamori, K. Tanizawa, H. Yamaguchi, X-ray Snapshots of Quinone Cofactor Biogenesis in Bacterial Copper Amine Oxidase, Nature Struct.Biol., 9, 2002, 591-596
4. M. M. Whittaker, V. L. DeVito, S. A. Asher, J. W. Whittaker. Resonance Raman evidence for tyrosine involvement in the radical site of galactose oxidase. J. Biol. Chem. 264, 1989, 7104 - 7106.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Shoji Mitsuo, Murakawa Takeshi, Boero Mauro, Shigeta Yasuteru, Hayashi Hideyuki, Okajima Toshihide	4. 巻 10
2. 論文標題 Unique protonation states of aspartate and topaquinone in the active site of copper amine oxidase	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 38631 ~ 38639
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ra06365g	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 村川武志、栗原和男、庄司光男、柴崎千枝、角南智子、玉田太郎、矢野直峰、山田太郎、日下勝弘、鈴木守、重田育照、黒木良太、林 秀行、矢野貴人、谷澤克行、安達基泰、岡島俊英	4. 巻 181
2. 論文標題 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 - (4月28日、プレス発表)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J-PARC News	6. 最初と最後の頁 2~2
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 無
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 1
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 2019	6. 最初と最後の頁 20-21
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 Takeshi Murakawa, Kazuo Kurihara, Mitsuo Shoji, Chie Shibazaki, 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 オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 T. Murakawa, T. Okajima, K. Kurihara, M. Adachi	4. 巻 6
2. 論文標題 X-Ray and Neutron Joint Refinement Displays Shared Proton and Keto Form of Quinone Cofactor in Copper Amine Oxidase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Photon Factory Highlights 2020	6. 最初と最後の頁 42 ~ 43
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 無
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, Suzuki Mamoru, Arima Toshi, Sugahara Michihiro, Tanaka Tomoyuki, Tanaka Rie, Iwata So, Nango Eriko, Tono Kensuke, Hayashi Hideyuki, Fukui Kenji, Yano Takato, Tanizawa Katsuyuki, Okajima Toshihide	4. 巻 77
2. 論文標題 Microcrystal preparation for serial femtosecond X-ray crystallography of bacterial copper amine oxidase	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section F Structural Biology Communications	6. 最初と最後の頁 356 ~ 363
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/s2053230x21008967	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 T. Murakawa, K. Kurihara, T. Tamada, K. Kusaka, M. Adachi, T. Okajima	4. 巻 12
2. 論文標題 Neutron Crystallography Reveals Unprecedented Active-site Structure in Copper Amine Oxidase	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J-PARC MLF ANNUAL REPORT 2020	6. 最初と最後の頁 14-16
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, Kurihara Kazuo, Adachi Motoyasu, Kusaka Katsuhiko, Tanizawa Katsuyuki, Okajima Toshihide	4. 巻 9
2. 論文標題 Re-evaluation of protein neutron crystallography with and without X-ray/neutron joint refinement	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 IUCrJ	6. 最初と最後の頁 342 ~ 348
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/s2052252522003657	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7件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 庄司 光男、村川 武志、重田 育照、林 秀行、岡島 俊英
2. 発表標題 QM/MM法による銅アミン酸化酵素のプロトン化状態についての理論解析
3. 学会等名 第34回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 庄司 光男、村川 武志、重田 育照、林 秀行、岡島 俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素のプロトン化状態についてのQM/MM解析
3. 学会等名 量子生命科学会第2回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 Neutron crystallography of copper amine oxidase: Novel protonated structure in the active site
3. 学会等名 錯体化学会第70回討論会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 岡島俊英
2. 発表標題 銅アミン酸化酵素の高分解能中性子結晶構造と触媒反応機構
3. 学会等名 2020 年度iBIX-JAXA-KEK 物構研-QST 合同タンパク質研究会（招待講演）
4. 発表年 2020年

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生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

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

銅アミン酸化酵素の中性子結晶構造解析に成功 宙に浮いているように見える水素イオンなど初めて解明
<https://www.ibaraki.ac.jp/news/2020/04/28010784.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://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.ccs.tsukuba.ac.jp/release-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
<http://www.tsukuba.ac.jp/attention-research/p202004280400.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://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>

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	村川 武志 (Murakawa Takeshi) (90445990)	大阪医科薬科大学・医学部・助教 (34401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------