

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：35408

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05715

研究課題名(和文)二核銅酵素チロシナーゼの成熟化と反応機構の解明と新規阻害剤の戦略的開発

研究課題名(英文)Elucidation of catalytic and maturation mechanisms of dicopper enzyme tyrosinase and the development of the inhibitors

研究代表者

的場 康幸 (Matoba, Yasuyuki)

安田女子大学・薬学部・准教授

研究者番号：90363051

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、放線菌由来チロシナーゼ(Ty)とその金属シャペロンであるキャディー(Cad)からなる複合体を用い、Tyの反応機構と成熟化機構を解明することを目的としている。Tyがフェノラーゼ活性を発揮するためには、基質が基質結合部位に存在するシールドモチーフを遊離させる必要があること、および、活性中心付近の水分子の塩基性が高い必要があることが判明した。また、Ty・Cad複合体を用い、亜鉛イオン存在下で銅イオンが取り込まれる機構について調査したところ、CadのTyr98残基が酸化されることが、効率的な銅イオンの取り込みに重要であることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果として、Tyの基質結合部位を覆うシールドモチーフが存在しているとき、カテコール基質に比べ、フェノール基質の方が相対的に結合しにくくなることが示された。このことは、カテコール基質の基質結合部位への侵入によってシールドモチーフが遊離することが、Tyのフェノラーゼ活性のために重要であることを示唆する。同様に、銅イオンが取り込まれるTyの成熟化過程においても、成熟化後にシールドモチーフが遊離することが、効率的な銅イオンの取り込みに重要であることが示された。これらの知見は、様々な過程で働くTy阻害剤を開発するために役立つと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to elucidate the catalytic and maturation mechanisms of dicopper enzyme tyrosinase (Ty) using the complex formed between the Streptomyces Ty and its metallochaperone caddie protein (Cad). While Ty catalyzes both phenolase and catecholase reactions, catechol oxidase (CO) catalyzes only the latter reaction. The ability of the substrates to dissociate the motif shielding the active-site pocket seems to contribute critically to the substrate specificity of Ty. In addition, the increased basicity of the active-site water molecule was found to be necessary for the efficient phenolase reaction. On the other hand, zinc ions are thought to be bound to active site of Ty before the maturation. The oxidation of the Tyr98 residue of Cad after the replacement to the copper ions and the following release of Cad are likely important to stimulate the maturation.

研究分野：生体関連化学

キーワード：チロシナーゼ 銅イオン 反応機構 成熟化

1. 研究開始当初の背景

メラニンはチロシンを出発物質として合成される黒色色素である。メラニン色素生成に関わる酵素としてチロシナーゼ (Ty) が知られている。Ty は、その活性中心に 2 個の銅イオンを含む金属結合酵素であり、ヒトから細菌に至るまで広く分布している。また、活性中心の銅結合部位を含む約 250 アミノ酸残基からなる領域は、生物種を超えてアミノ酸配列上での相同性が認められる。本酵素はチロシンをメラニン前駆物質であるドーパキノンへと変換する反応を触媒するため、Ty 活性を阻害すればシミやソバカスの原因となるメラニン色素の生成を抑制できる。Ty はその阻害剤が商業利用できることから、古くから注目されてきた。しかしながら、効果的な阻害剤が開発されているとはいえない。この原因は、成熟化機構 (銅イオンの取り込み) と反応機構が完全に理解されていないことに起因すると考えられる。

Ty の成熟化に関していえば、活性発現に必要な銅イオンが他の遷移金属イオン存在下で選択的に輸送される機構はよく分かっていない。実際に、海外グループの研究により、Ty が働く環境下において、Ty は銅イオンよりも多く存在する亜鉛イオンと結合し、不活性状態になっていることが示唆されている (Lai *et al.*, *Angew. Chem.* **56**, 9812–9815, 2017)。一方、Ty の反応機構についていえば、Ty 反応は基質が脱プロトン化すると進行すると考えられているが、どのアミノ酸残基が触媒塩基として働くのか、Ty の活性中心は μ - η^2 : η^2 -ペルオキシ二核銅を形成することが知られているが、基質に酸素を添加する直前に生じる分子種は何か、カテコールオキシダーゼ (CO) は Ty に類似した酵素でありドーパをドーパキノンへ変換できるものの、チロシンをドーパキノンに変換できない。Ty と CO の酵素学的違いは何に起因するのか、という 3 つの点が長らく不明である。また、酵素と阻害剤の結合様式が明らかになれば、より強力な阻害剤をデザインできると考えられるが、阻害剤の結合様式についても不明な点が多い (Bochot *et al.*, *Chem. Comm.* **50**, 308–310, 2014; Deri *et al.*, *Sci. Rep.* **6**, 34993, 2016)。

2. 研究の目的

本研究グループが研究対象としている放線菌由来 Ty は、特異的な銅輸送タンパク質 (Cad) との複合体として産生される。この複合体に銅イオンを添加すると、Ty の活性中心に銅イオンが取り込まれ、Ty は活性型に変化する。その一方で、Cad は複合体から解離し、解離した Cad は重合して凝集体を形成する。筆者はこれまでに、Cad との複合体として Ty の三次元構造を決定することに成功した (Fig. 1, Matoba *et al.*, *J. Biol. Chem.* **281**, 8981–8990, 2006)。その結果、活性中心にある 2 つの銅イオン (Cu^A と Cu^B) は、それぞれ、3 つのヒスチジン残基と結合していることを明らかにした。その後、X 線結晶構造解析と変異体解析とを組み合わせることにより、Cad による Ty への銅輸送機構を構造学的に解明した (Matoba *et al.*, *J. Biol. Chem.* **286**, 30219–30231, 2011)。一方、Ty · Cad 複合体の結晶構造においては、Cad の Tyr98 残基が Ty の活性中心にフタをするように位置している。筆者は、質量分析解析を用いることで、Cad の Tyr98 残基が Ty の触媒作用により翻訳後修飾を受けドーパキノンへと変換されうることを見出した。この成果をもとに、共鳴ラマン分光解析と時間分割 X 線結晶構造解析により、複合体中での反応機構を解析した。分光解析の結果として、反応の初期段階で μ - η^2 : η^2 -ペルオキシ二核銅(II)が形成され、 μ - η^2 : η^2 -ペルオキシ二核銅(II)の消失とともに、Tyr98 残基は $\text{Cu}(\text{II})$ 結合型ドーパセミキノンに変換され、最終的にはドーパキノンが生成することを明らかにした (Matoba *et al.*, *Biochemistry* **56**, 5593–5603, 2017)。一方、Cad の Tyr98 残基に対する Ty 反応を時間分割 X 線結晶構造解析で観察することにより、反応中に銅イオンのひとつが大きく移動することを見出すとともに、触媒塩基を予測することに成功した (Matoba *et al.*, *PLoS Biol.* **16**, e3000077, 2018)。幸運なことに Ty · Cad 複合体の結晶は非常に良質であり、大型放射光施設を用いて回折実験を行うと、最高で 1.1 Å 分解能の回折像を与える。このため、Ty · Cad 複合体を用いることで Ty の成熟化および反応機構を電子密度として明瞭に可視化できる可能性があり、本複合体は Ty 研究における極めて重要なツールであるといえる。

本研究では、Ty · Cad 複合体を研究対象とし、その成熟化と反応機構をより詳細に明らかにすることを試みる。得られた知見は、強力かつ、従来のものとは作用点の異なる Ty 阻害剤の開発に役立つと考えられる。

3. 研究の方法

(1) 酵素活性測定

野生型の Ty · Cad 複合体や部位特異的変異を導入した複合体に、各種濃度の CuSO_4 (10, 1, 0.1,

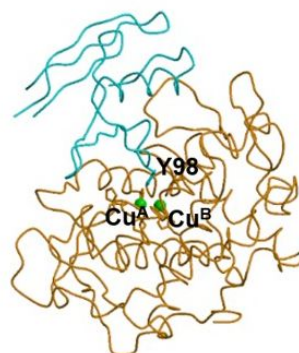


Fig. 1. Ty · Cad複合体の結晶構造。Tyをオレンジで、Cadをシアンで示している。

0.01 μM) と 1 mM NH_2OH を添加し、30°Cで一定時間放置することで、Ty を活性化した。その後、種々の濃度の基質を加え、470 nm の吸光度の増加を経時的に測定した。なお、フェノール基質としてチラミン、カテコール基質としてドーパミンを用いた。

(2) X線結晶構造解析

野生型の Ty · Cad 複合体や部位特異的変異を導入した複合体の結晶を作成し、1 mM CuSO_4 と 10 mM NH_2OH を含む溶液中で 24 時間ソーキングした後に回折強度を測定し、その結晶構造を決定した。

4. 研究成果

(1) 基質特異性に関する研究

本研究では、活性中心近傍に存在する水分子 Wat4 に着目した (Fig. 2)。放線菌 Ty において、この水分子は Glu182 と Asn191 残基の側鎖と水素結合している。各種 Ty や CO のアミノ酸配列を調査すると、放線菌 Ty の Glu182 に対応する残基はグルタミン酸であり高度に保存されている。一方、Asn191 に対応する残基は、Ty ではアスパラギン、CO ではグリシンになっている場合が多い。そこで Asn191 残基をグリシンに置換した N191G 変異体を作成し、この変異体の酵素活性を調査した。ただし、Cad と結合していない野生型 Ty は調製できたものの、N191G 変異型 Ty は調製できなかった。そこで、Cad と複合体を形成している野生型もしくは N191G 変異型 Ty に CuSO_4 と NH_2OH を添加することで Ty を活性化し、その後基質を添加して酵素活性を測定した。得られたカインेटクスパラメーターを Table 1 に示す。なお、本研究で使用した NH_2OH は、酵素に結合した銅イオンを還元する作用を持つため、分子状酸素存在下で NH_2OH を加えると、オキシ型酵素を生じさせることができる。

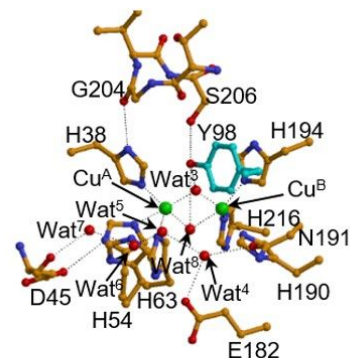


Fig. 2. Ty · Cad複合体におけるTyの活性中心の構造。Tyをオレンジで、Cadをシアンで示している。

Table 1. Ty のカインेटクスパラメーター

| Parameters | Wild type* | N191G* | Cad-free Ty |
|--|-------------------|-----------------------|-----------------|
| Dopamine catecholase activity | | | |
| k_{cat} (s^{-1}) | 42 ± 5 | 2.6 ± 0.2 | 135 ± 9 |
| K_m (mM) | 14 ± 3 | 4.5 ± 0.8 | 4.1 ± 0.8 |
| k_{cat}/K_m ($\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$) | 3.1 ± 0.7 | 0.58 ± 0.12 | 33 ± 7 |
| Tyramine phenolase activity in the absence of dopamine | | | |
| k_{cat} (s^{-1}) | 0.047 ± 0.002 | 0.038 ± 0.004 | 9.7 ± 0.9 |
| K_m (mM) | 3.9 ± 0.6 | 4.4 ± 1.6 | 14 ± 3 |
| k_{cat}/K_m ($\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$) | 0.012 ± 0.002 | 0.0084 ± 0.0032 | 0.70 ± 0.19 |
| Tyramine phenolase activity in the presence of dopamine | | | |
| k_{cat} (s^{-1}) | 3.6 ± 0.1 | 0.073 ± 0.009 | |
| K_m (mM) | 15 ± 2 | 79 ± 14 | |
| k_{cat}/K_m ($\text{mM}^{-1} \text{s}^{-1}$) | 0.23 ± 0.02 | 0.00092 ± 0.00020 | |

* 銅非結合型複合体に Cu(II) と NH_2OH を添加し 5 分後に基質を添加した。

Cad と結合していない野生型 Ty を用いたときと比べ、Cad が存在すると Ty のカテコラーゼ活性およびフェノラーゼ活性は減少した (Table 1)。ただし、フェノラーゼ活性の減少の方が顕著である。一方、ドーパミンを共存させると、Cad 存在下における野生型 Ty のフェノラーゼ活性が増加した。Cad は Ty に銅を輸送するだけでなく、活性中心をシールドする役割を持つと考えられる。すなわち、本実験結果は、フェノールに比べカテコールの方が活性中心近傍にあるシールド部分を引きはがす能力が高いことを示唆している。またこのことは、Ty の成熟化の最終段階において、カテコール基質が基質結合ポケットに侵入し、シールド部分を取り除く作用を持つこと、および、シールド部分の存在が酵素の見かけ上の基質特異性に影響を及ぼすことを示している。一方、N191G 変異型 Ty はカテコラーゼ活性を有していたものの、ドーパミン添加の有無にかかわらず、弱いフェノラーゼ活性しか有していなかった。このことは、シールド部分だけでなく、活性中心近傍における水分子の安定性・塩基性も、基質特異性に影響を及ぼしていることを示唆する。

(2) X線結晶構造

筆者らが行った時間分割 X 線結晶構造解析 (Matoba *et al*, *PLoS Biol.* **16**, e3000077, 2018) から、Ty の Tyr98 残基に対するフェノラーゼ活性は次のように進行すると推測される。まず、オキシ型酵素による酸素添加反応後に Cu(II) 結合型ドーパセミンキノンが生じる。その後、電子移動を伴

って、デオキシ 2 型とドーパキノンへと変換される。特に、Cu(II)結合型ドーパセキニンの生成時に、2つの銅イオンのうち Cu^A が大きく位置を変え、基質の水酸基の方へと近づく。一方、デオキシ 2 型においては、 Cu^A は元の位置に戻る。ただし、通常のデオキシ型では2つの銅イオン間の架橋分子が水であるのに対し、デオキシ 2 型では水酸化物イオンとなっており、 Cu^A と Cu^B の間の距離が短くなっている。

野生型および N191G 変異型複合体の結晶中で Cad の Tyr98 残基に対する酵素反応を進行させたところ、両複合体で Tyr98 残基に対する反応が進行していることが観察された (Fig. 3)。しかしながら、野生型複合体では、Cu(II)結合型ドーパセキニンを含む中間体と架橋部位に水酸化物イオンをもつデオキシ 2 型の存在が示唆されたものの、N191G 変異型複合体ではこれらの中間体が見いだされなかった。

Ty のモデル錯体を利用した研究から、Ty のフェノラーゼ活性は基質のフェノール性水酸基が脱プロトン化されているときに効率よく触媒されることが示されている (Itoh *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 6708–6709, 2001)。今回、フェノラーゼ活性が低い N191G 変異体では、Cu(II)結合型ドーパセキニンとデオキシ 2 型中間体がみられなかった。このことは、Ty のフェノラーゼ活性が効率よく回転するためには、架橋位置に水酸化物イオンが存在するデオキシ 2 型中間体の生成が必要であり、この中間体の水酸化物イオンが、次のフェノール基質を脱プロトン化するのではないかと示唆される。野生型 Ty において、Wat4 は Glu182 と Asn191 残基と相互作用し安定化されるとともに、塩基性が高くなっている。また、フェノラーゼ活性の触媒サイクルで水素イオンが生じる。これらのことを合わせて考えると、野生型では Wat4 の部位で酵素反応中に生じた水素イオンが保持され、架橋部位が水分子に変換されるのを妨げていると推測される。一方、N191G 変異体では Wat4 の位置で水素イオンを保持できず、デオキシ 2 型が速やかに消失し、効率的な触媒サイクルを維持できないのではないかと考えられる。

(3) 成熟化に関する研究

金属非結合型 Ty · Cad 複合体に対し、種々の濃度の CuSO_4 を添加し、所定時間経過後に等容量の 50 mM ドパミンを添加し、酵素活性を算出した (Fig. 4A)。得られた酵素活性は、所定時間経過後における銅イオン輸送が完了した Ty の濃度に比例すると考えられる。その結果、 CuSO_4 が高濃度 (10 μM 、1 μM) の場合では、酵素活性が最大値になるまでに要する時間が短く、かつ、最大活性値が高くなった。

一方、低濃度 (0.1 μM 、0.01 μM) の場合では、酵素活性が最大値になるまでに要する時間が長くなり、かつ、最大活性値が小さくなった。いずれの濃度においても、酵素活性が最大値に達した後、酵素活性の減少が認められた。一方、銅イオンを還元する作用を持つ NH_2OH を共存させると、低濃度の CuSO_4 (0.1 μM 、0.01 μM) で十分に Ty が活性化された (Fig. 4B)。このことは、Cu(I)の方が Cu(II)よりも取り込まれやすいことを示している。

次に、1 mM ZnSO_4 存在下で銅イオンを添加し、所定時間後の Ty 活性を調べた。その結果、 ZnSO_4 存在下では、酵素活性が最大化するために必要な時間が増加する傾向が認められた (Fig. 5)。特に、 NH_2OH 非存在下で 1 mM

ZnSO_4 が存在している場合には、0.01 μM CuSO_4 では酵素活性が上昇しなかった (Fig. 5A)。ただし、 NH_2OH 存在下では、0.01 μM の銅イオンで酵素活性が十分に上昇した (Fig. 5B)。同様の結果は、1 mM ZnSO_4 存在下で 1 時間プレインキュベーションした後、 CuSO_4 と NH_2OH を添加した場合にも観察された (Fig. 5C)。これらのことから、銅イオンの方が亜鉛イオンよりも Ty に取り込まれやすく、かつ、銅イオン (特に還元された Cu(I)) は亜鉛イオンと容易に置換可能

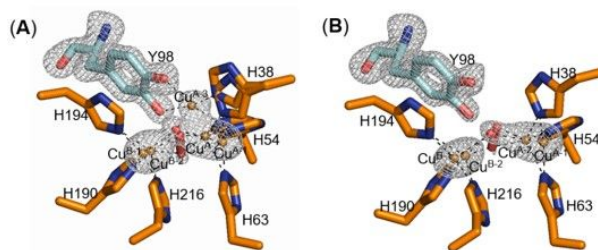


Fig. 3. Ty · Cad複合体におけるY98、 Cu^A および Cu^B の電子密度。(A)は野生型、(B)はN191G変異型のものを示している。

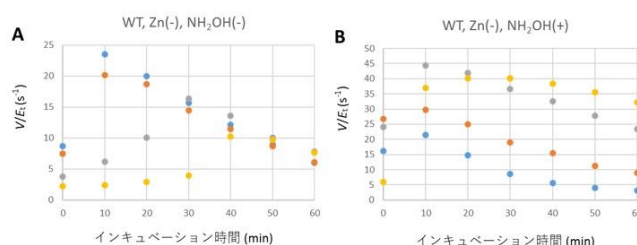


Fig. 4. 亜鉛イオン非存在下における野生型Cadと複合体を形成したTyの酵素活性の変化。青、オレンジ、グレー、黄色は、それぞれ、10 μM 、1 μM 、0.1 μM 、0.01 μM の銅イオンを添加したときの結果を示す。

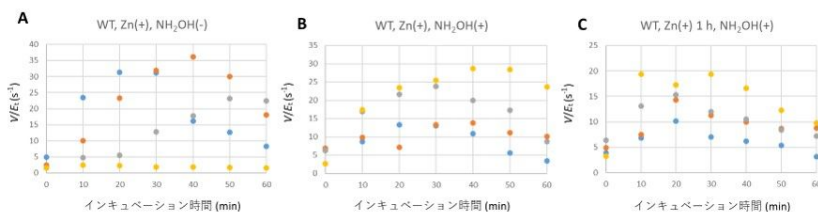


Fig. 5. 亜鉛イオン存在下における野生型Cadと複合体を形成したTyの酵素活性の変化。青、オレンジ、グレー、黄色は、それぞれ、10 μM 、1 μM 、0.1 μM 、0.01 μM の銅イオンを添加したときの結果を示す。

であることが明らかとなった。

野生型 Cad の Tyr98 残基は Ty の活性中心に位置し、Ty により酸化反応を受ける。この残基をフェニルアラニンに置換した場合は、この酸化修飾反応が起こらない。この置換が Ty の成熟化に及ぼす影響を調べるため、Y98F 変異型 Cad と複合体を形成した Ty について同様な実験を行った。その結果、野生型複合体のときと同様に、NH₂OH 非存在下で CuSO₄ が高濃度の場合には、

酵素活性が最大値になるまでに要する時間が短く、かつ、最大活性値が高くなった (Fig. 6A)。一方、CuSO₄ が低濃度の場合では、酵素活性が最大値になるまでに要する時間が長くなり、かつ、最大活性値が小さくなった。いずれの濃度においても、酵素活性が最大値に達した後、酵素活性の減少が認められた。一方、NH₂OH を共存させると、野生型複合体に比べて高い酵素活性が確認された (Fig. 6B)。また、CuSO₄ 濃度が 10 μM の場合は、酵素活性が急速に減少したが、1 μM や 0.1 μM の場合には、酵素活性の減少が緩やかであり、かつ、酵素活性の最大値は野生型複合体のものに比べ数倍高くなった。0.01 μM の場合には、酵素活性が徐々に増加したが、高濃度で認められた酵素活性の極大値に比べ低い値であった。これらのことは、野生型複合体において Cad の酸化修飾が起こると劇的に酵素活性が減弱するのに対し、Y98F 変異型複合体では酸化修飾が起こらず酵素活性の減少が緩やかであることを示している。

次に、1 mM ZnSO₄ 存在下で Y98F 変異型複合体に銅イオンを添加し、所定時間後の Ty 活性を調べた。その結果、野生型複合体の場合と同様に、ZnSO₄ 存在下では酵素活性が最大化するために必要な時間が増加していた (Fig. 7)。

特に、NH₂OH 非存在下で 1 mM ZnSO₄ が存在している場合には、0.01 μM の銅イオンでは酵素活性がほとんど上昇しなかった (Fig. 7A)。一方、NH₂OH 存在下では、0.01 μM の CuSO₄ でも酵素活性が十分に上昇した (Fig. 7B)。ただし、ZnSO₄ 非存在下で CuSO₄ を添加することで得られた最大値には到達しなかった。一方、1 mM ZnSO₄ 存在下で 1 時間プレインキュベーションした後、各種濃度の CuSO₄ と NH₂OH を添加した場合には、Ty の酵素活性はプレインキュベーションしなかった場合の半分程度までしか増加せず、0.01 μM の銅イオンでは、ほとんど活性化されなかった (Fig. 7C)。これらのことは、Ty の活性中心金属を亜鉛イオンから銅イオンへ置換するには、Cad の酸化修飾が非常に重要であることを示している。

Ty はその反応機構を考えると、Cu(I)と Cu(II)の両方と結合できる。Cu(I)と Zn(II)は正四面体型配置を好むのに対し、Cu(II)は四辺形型配置を好むことから、Zn(II)は Cu(I)と同じ形式で Ty に結合すると考えられる。ただし、O₂ 存在下で 2 個の Cu(I)が Ty に結合すると、速やかにオキシ型に変換され、Cu(I)は Cu(II)に変換される。この経路が存在するため、銅イオンに比べて大量の Zn(II)存在下においても、Ty は銅イオンを取り込むことができる。

一方、Ty はタンパク質中のチロシン残基にも作用し、ドーパキノンに変換する。ドーパキノンは反応性が高く、同一もしくは別のタンパク質中のアミノ基と共有結合を形成する。このような共有結合が生じると、タンパク質の凝集が引き起こされる。このため、Ty の酵素活性は時間とともに減少する。野生型複合体では、最初に Cad の Tyr98 残基がドーパキノンに変換される。酸化修飾された Cad の強い凝集傾向により Ty・Cad 複合体から Ty の解離が促進されるが、Cad とともに Ty が凝集してしまう可能性がある。他方、Y98F 変異型複合体では、複合体が自発的に解離した後に、Ty や Cad に含まれる他のチロシン残基が酸化されて凝集し、酵素活性が減少すると推察される。このため、Y98F 変異型複合体では、野生型複合体に比べ凝集体を形成する確率が減少したため高い酵素活性が得られたと考えられる。ただし、野生型複合体では、Ty が成熟化した後に Cad の Tyr98 残基がドーパキノンに変換されるため、Ty の成熟化と複合体の解離が同時進行する。他方、Y98F 変異型複合体では、2 つの過程が同時進行せず、結果として、亜鉛イオンが大量に存在する場合には成熟化が効率よく進行しなかったと考えられる。

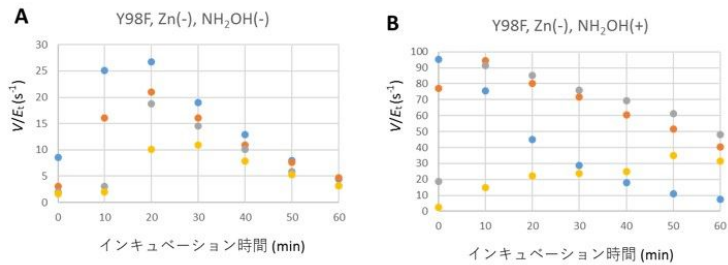


Fig. 6. 亜鉛イオン非存在下におけるY98F変異型Cadと複合体を形成したTyの酵素活性の変化。青、オレンジ、グレー、黄色は、それぞれ、10 μM、1 μM、0.1 μM、0.01 μMの銅イオンを添加したときの結果を示す。

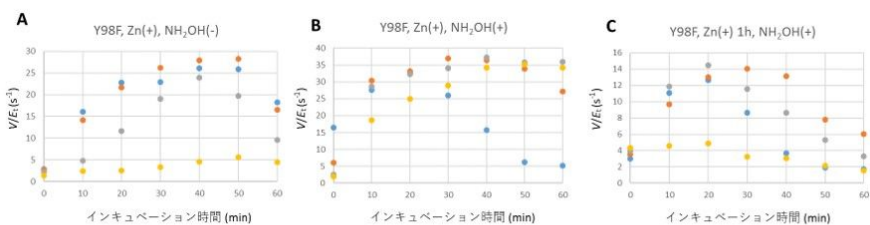


Fig. 7. 亜鉛イオン存在下におけるY98F変異型Cadと複合体を形成したTyの酵素活性の変化。青、オレンジ、グレー、黄色は、それぞれ、10 μM、1 μM、0.1 μM、0.01 μMの銅イオンを添加したときの結果を示す。

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 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名 Oda Kosuke, Shimotani Natsuki, Kuroda Teruo, Matoba Yasuyuki | 4. 巻 76 |
| 2. 論文標題 Crystal structure of an N ⁶ -hydroxy-L-arginine hydrolase found in the D-cycloserine biosynthetic pathway | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section D Structural Biology | 6. 最初と最後の頁 506 ~ 514 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2059798320004908 | 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 Matoba Yasuyuki, Noda Masafumi, Yoshida Tomoki, Oda Kosuke, Ezumi Yuka, Yasutake Chiaki, Izuhara-Kihara Hisae, Danshiitsoodol Narandarai, Kumagai Takanori, Sugiyama Masanori | 4. 巻 10 |
| 2. 論文標題 Catalytic specificity of the Lactobacillus plantarum cystathionine ^β -lyase presumed by the crystallographic analysis | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Scientific Reports | 6. 最初と最後の頁 14886 ~ 14886 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-71756-7 | 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 Matoba Yasuyuki, Sato Yuichiro, Oda Kosuke, Hatori Yuta, Morimoto Kinjiro | 4. 巻 296 |
| 2. 論文標題 Lectins engineered to favor a glycan-binding conformation have enhanced antiviral activity | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry | 6. 最初と最後の頁 100698 ~ 100698 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2021.100698 | 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 Matoba Yasuyuki, Oda Kosuke, Muraki Yoshimi, Masuda Taro | 4. 巻 183 |
| 2. 論文標題 The basicity of an active-site water molecule discriminates between tyrosinase and catechol oxidase activity | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 International Journal of Biological Macromolecules | 6. 最初と最後の頁 1861 ~ 1870 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijbiomac.2021.05.206 | 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 Oda Kosuke, Matoba Yasuyuki, Sugiyama Masanori, Sakaguchi Takemasa | 4. 巻 95 |
| 2. 論文標題 Structural insight into the interaction of Sendai virus C protein with Alix to stimulate viral budding | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Virology | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.00815-21 | 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 Oda Kosuke, Sakaguchi Takemasa, Matoba Yasuyuki | 4. 巻 90 |
| 2. 論文標題 Crystal structure of O ureidoserine racemase found in the D cycloserine biosynthetic pathway | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics | 6. 最初と最後の頁 912 ~ 918 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/prot.26290 | 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 Oda Kosuke, Sakaguchi Takemasa, Matoba Yasuyuki | 4. 巻 31 |
| 2. 論文標題 Catalytic mechanism of DcsB: Arginase framework used for hydrolyzing its inhibitor | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Protein Science | 6. 最初と最後の頁 - |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/pro.4338 | 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 的場 康幸 | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 チロシナーゼの反応機構解明を目指して | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 COSMETOLOGY | 6. 最初と最後の頁 239 ~ 239 |
| 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 的場 康幸 | 4. 巻 30 |
| 2. 論文標題 X線結晶構造解析に基づくチロシナーゼの成熟化および反応機構の解析 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 COSMETOLOGY | 6. 最初と最後の頁 147 ~ 150 |
| 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 - |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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 |
|---------------------------|-----------------------|----|
|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|