

# 銅アミン酸化酵素活性中心の高分解能 X 線および中性子 結晶構造

## Active-site structure of copper amine oxidase determined by high-resolution X-ray and neutron crystallography

<sup>1</sup>岡島 俊英、<sup>2</sup>村川 武志、<sup>3</sup>栗原 和男、<sup>3</sup>安達基泰、<sup>3</sup>柴崎 千枝、

<sup>3</sup>玉田 太郎、<sup>2</sup>林 秀行、<sup>1</sup>谷澤 克行

<sup>1</sup>大阪大学産業科学研究所

<sup>2</sup>大阪医科大学医学部

<sup>3</sup>量子科学技術研究開発機構

銅アミン酸化酵素は様々な生物種に普遍的に存在し、各種の一級アミンの酸化脱アミノ反応を触媒する。本酵素は、微生物においては、アミン類を資化するために機能するが、高等生物ではヒスタミンなどの生理活性アミンの消去系として機能するばかりでなく、シグナル伝達系へ関与するなど多彩な生理機能をもつ。様々な基質特異性をもつ銅アミン酸化酵素が同定されているが、活性中心には酸化還元補酵素トパキノン (TPQ) と銅イオンが存在し、共通した反応機構を有していることを示唆している。

我々は、土壌細菌 *Arthrobacter globiformis* に由来した銅アミン酸化酵素 (AGAO) を用いて、反応速度論的な解析と反応中間体の結晶構造解析を組み合わせ、本酵素触媒反応の詳細な分子機構を明らかにすることを目指している。補酵素 TPQ は複数の反応中間状態をとり、特有な可視吸収スペクトルで識別できることに加え、異なる条件で基質アミンをソーキングすることによって、結晶内で各種の反応中間状態を作り出すことが可能である。そのため、極めて詳細な機能・構造解析が可能である。これまでに、反応過程で補酵素 TPQ が基質アミンと形成する共有結合型反応中間体の詳細、プロトンの移動機構などを解明し (*Biochemistry*, 2006, 45, 4105)、さらに、補酵素が2つのコンフォメーションを切り替えて (*J. Biol. Chem.* 2015, 290, 23094)、効率的な反応が達成されていることを明らかにしてきた。さらにここ数年、反応におけるプロトン移動を可視化するため、MLF 茨城県中性子ビームライン iBIX において本酵素、特に反応中間体解析を目的とした中性子回折実験を行っている。その第一段階として、最近ようやく、反応開始状態である酸化型 AGAO の中性子・X 線共構造を 1.72 Å 分解能で決定することに成功した。得られた構造 (70 kDa) は、分子サイズに関して、これまで PDB に登録されたタンパク質の中性子構造のうち、サブユニットあたりで最大サイズであった。活性中心の(重)水素原子座標にもとづいて、X 線結晶構造解析だけではわからなかった詳細な構造情報が得られたので紹介したい。