

- 個別的解析プログラム -

5 - 2 発生・分化と DNA の複製・修復

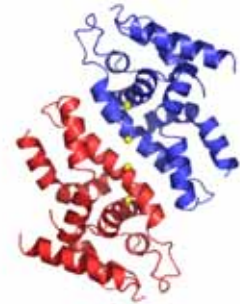
グループ名	個別的解析プログラム (発生・分化と DNA の複製・修復)
中核機関名	東京大学
代表者名	田之倉 優

1. 平成19年3月末におけるグループ全体の事業計画に対する成果の概要について

発生・分化に関わるタンパク質の構造解析・機能解析の成果

真核生物の発生過程に必須な RNAi 関連タンパク質 Dicer の RNA 分解酵素ドメインの構造解析

東大・田之倉は、真核生物の遺伝子発現制御機構の一つ、RNA 干渉 (RNAi) に関与するヒト Dicer の C 末端側 RNase III ドメイン領域の結晶構造を 2.0 Å の分解能で決定した。この構造データはヒト Dicer の中では初めての立体構造であり、高等真核生物由来のドメインを解析することにより特徴的な構造を見出すことができた。RNA 分解活性を有する Dicer は発生過程に必須な分子であり、分解物の RNA 断片 (siRNA) が RNAi を引き起こす。Dicer の構造は、RNAi の分子機構の解明に大いに役立つだけでなく、RNAi を利用した遺伝子治療技術開発のために必須な知見を提供する。



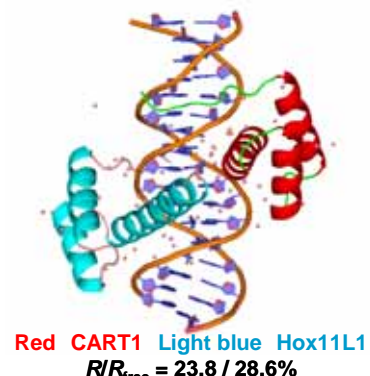
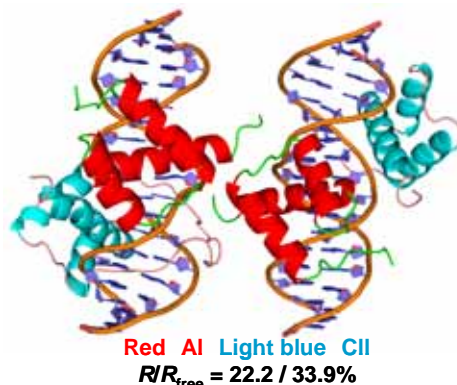
ヒト Dicer RNase III ドメイン
(PDB ID:2EB1)

脊椎動物の初期発生・器官形成に重要なタンパク質 30 種の機能解析・構造解析

東大・高橋と田之倉は、両生類胚期の予定外胚葉をアクチピンで処理するアニマルキャップアッセイから、初期発生や器官形成に重要であると特定されたタンパク質 30 種類について、小麦胚芽無細胞発現系と大腸菌コールドショック発現系とを用いて発現量・可溶性発現の検討を行った。中胚葉誘導因子 activin やその阻害因子 antivin、脊索への分化を誘導する Btg2、神経管の初期分化に必須な dullard の活性型発現に成功し、結晶化を進めている。

ハエの脚分化を規定する転写因子と DNA の 3 者複合体の機能解析・構造解析

東大・小嶋と田之倉は、ショウジョウバエの肢の発生過程に働く転写因子間の相互の発現制御機構を解析し、Aristaless (Al) と Clawless (Cll) が発現している最先端部で Bar が発現しないのは、Al と Cll が強制的に働いて Bar の発現を抑制しているためであることを明らかにした。Al 単独や、Cll 単独では認識 DNA 配列との結合力が極めて低いが、Al-Cll-DNA



の三者が共存する条件では強い DNA 結合活性を示す。このような特徴的な結合力の調節を担う構造学的な特徴を明らかにするために、Al と Cll およびそのヒトホモログ CART1 (Al ホモログ)、Hox11L1 (Cll ホモログ) と認識 DNA との三者複合体立体構造解析を行い、それぞれの立体構造を決定した。

分化や疾患に関連する膜タンパク質の発現・機能解析・構造解析

東大・田之倉、永田、佐藤、東葉大・山岸は、ヒト adrenaline 受容体 (7 回膜貫通型 G タンパク質共役受容体)、ヒト抗糖尿病ホルモン adiponectin の受容体膜タンパク質 AdipoR1 (7 回膜貫通型) の酵母での発現に成功した。また、破骨細胞の分化に関与する膜タンパク質 V-ATPase の膜貫通ドメインの結晶化に成功し、4.0 Å 分解能の回折データを得た。さらに、腸球菌の悪性化に関わる受容体膜タンパク質 FsrC (7 回膜貫通型) の大腸菌での発現と結晶化に成功し、結晶化条件の最適化中。その他、原核生物の膜タンパク質の高効率発現系を作成し、超好熱古細菌 *Aeropyrum pernix* の膜タンパク質 20 種類の発現検定の結果、12 種類の高発現に成功した。

心臓の発生と機能に重要なトロポニンの機能解析・構造解析・創薬基盤研究

東大・田之倉は、拘束型心筋症の原因となる troponin (Tn、TnT-TnI-TnC の 3 者複合体) タンパク質変異体の構造・機能を正常型と比較解析し、この異常 Tn の機能を正常化する薬剤を探索し、茶カテキン(EGCG) がシード化合物となりうることを発見した。NMR 機能解析から、EGCG は TnC の C 端ローブに結合し、TnC の C 端ローブと TnI との相互作用を強めることにより、Tn の Ca²⁺感受性を減弱させることを明らかにした。現在、EGCG を安全性の高い心筋症治療薬のシード化合物として医療応用にむけた基盤研究を展開している。

神経細胞の分化およびアルツハイマー病関連タンパク質の機能解析・構造解析・創薬基盤研究

三菱化学生命研・河野は、神経細胞の発生・分化およびアルツハイマー病の発症に関わる TPK I の構造を決定した。その立体構造を元に、アルツハイマー病治療薬のリード化合物の設計を進めている。

加齢性難聴や老化に関わるタンパク質群の特定・機能解析・構造解析・食品開発基盤研究

東大・田之倉は、加齢性難聴モデルマウスを用いた DNA マイクロアレイ解析により、加齢性難聴の発症や老化全般に関わるタンパク質を 28 個特定した。この中には、聴覚関連タンパク質のほか、寿命制御因子、ミトコンドリア DNA 修復酵素、ミトコンドリア機能調節因子が含まれていた。これらのタンパク質の構造解析・機能解析を、抗老化機能性食品の開発に結びつける予定である。

また、変異体マウスを使った実験から、ミトコンドリア DNA を複製する DNA polymerase γ (POLG) の校正機能を低下させると、早老症になることを示し、POLG 機能の抗老化への寄与を明らかにした。これは、DNA の複製・修復にも関連するテーマである。

DNA の複製・修復に関わるタンパク質の構造解析・機能解析の成果

DNA の複製に関わるタンパク質の機能解析・構造解析

九大・植田、石野は、DNA 複製関連タンパク質の構造解析・機能解析を進めている。原核型の複製開始因子 DnaA、その制御因子 HspQ の構造を決定し、ヘリカーゼ DnaB、その補助因子 DnaC、プライマーゼ DnaG の結晶化を進めている。また、真核型の DNA リガーゼ、複製フォーク修復タンパク質 Hef、Hjm の構造を決定し、複製ヘリカーゼ Mcm、複製ポリメラーゼ第 2 サブユニット DP1 の構造解析を進めている。また、DNA 鎖の連続合成に重要なクランプローディング複合体 (PCNA-RFC-DNA) の立体構造モデルを構築した。

DNA 複製時の変異導入を防ぐ MutT タンパク質の機能解析・構造解析

東大・田之倉は、DNA 複製時の変異導入を防ぐ MutT (ヒトから微生物まで広く分布している) の立体構造を決定した。複数の基質アナログ存在下での結晶構造から基質認識について新たな知見が得られた。

2. グループにおけるタンパク質の構造解析について

	平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月末	(参考) 平成 18 年 4 月～平成 19 年 3 月末
(1)PDB 登録数	152	37
(2)構造解析を終了したが PDB 未登録のタンパク質の数	74	18
(3)平成 19 年 4 月末までに構造解析が終了したタンパク質の数	2 (PDB ID : 2YYS, 2Z0C)	

3. 論文掲載数

	平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月末	(参考) 平成 18 年 4 月～平成 19 年 3 月末
・件数	529	127

4. 成果の産業連携について

	平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月末	(参考) 平成 18 年 4 月～平成 19 年 3 月末
(1)特許出願数 (国内)	39 件	3 件
特許出願数 (海外)	19 件	0 件

(2)特許登録数(国内) 特許登録数(海外)	1件 0件	0件 0件
(3)成果の産業移転及び産学連携を目的とした共同研究の件数及び内容	<p>平成14年4月～平成19年3月： 37件</p> <p>産業移転および産学連携を目的とした共同研究の主要例を示す。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 小麦胚芽無細胞発現系を利用した発生・分化関連タンパク質の多検体発現量・可溶性検定(東大・田之倉、永田、(株)三菱化学生命研・河野、ゾイジーン(株)) 2. 食品タンパク質の物性改変による新規機能性食品の開発(田之倉、味の素(株)) 3. 擬似無重力下での結晶化のための磁石および観察装置の開発(東大・田之倉、ジャパンスーパーコンダクタテクノロジー(株)) 4. 新規制限酵素の探索と構造解析(東大・小林、東大・田之倉、東洋紡) 5. ヒト等のTLR蛋白質と関連蛋白質の調製法に関わる共同研究(東大・佐藤) 6. 小麦胚芽無細胞合成系を利用したNMR用安定同位体標識試料調製法の開発(株)三菱化学生命研・河野、群馬大・若松) 7. 医薬品原料の非天然型アミノ酸合成酵素 TpMsAT の構造機能解析(東薬大・山岸、東大・田之倉) 8. 痛風の原因酵素キサンチン酸化還元酵素と阻害剤 4種との複合体の構造解析。構造情報に基づくさらに強力な抗痛風剤・抗活性酸素剤の開発、臨床応用(日医大・西野、帝人(株)、三菱ウェルファーマ(株)、(株)富士薬品、日本ケミファ(株)) 9. タンパク質の凝集を防止する新規化合物の開発と利用(群馬大・若松) 10. ノロウイルス感染を10分で同定可能なイムノクロマト法の開発(東大・牛島) 	
(4)成果の産業移転に関する具体的な例	<ol style="list-style-type: none"> 1. 制限酵素の探索に関連して東洋紡と共同研究を進め、「制限酵素の新しい探索方法」としての特許と「新規制限酵素」としての特許(下記)を東洋紡と東京大学とで出願した。(東大・小林) 2. 本プロジェクトで得られたキサンチン酸化還元酵素の構造情報を利用し、帝人(株)、三菱ウェルファーマ(株)、(株)富士薬品、日本ケミファ(株)の4社が開発した阻害剤のうち3種が痛風治療薬として臨床利用へ向けて開発中。そのうち帝人(株)が開発した薬剤は第3相臨床試験済み、日本でも臨床試験を繰り返している。三菱ウェルファーマ(株)、(株)富士薬品が開発したものはフェイズ2臨床試験の途中。日本ケミファ(株)と共同でタンパク質構造に基づく薬剤設計を試みている(日医大・西野) 3. 小麦胚芽無細胞タンパク質発現系を利用するウイルスプロテアーゼ阻害剤やプロテインキナーゼ阻害剤のハイスループット・スクリーニング技術の産業移転(愛媛大・遠藤) 	
(5)出願した特許の具体的な例	平成14年4月～平成19年3月に出願した特許の一覧を下表(表1)に示す。 国内：39件、国際：19件である。	

特許出願一覧(平成14年4月～平成19年3月)

発明の名称	発明人(代表者・分担者のみ示す)	特許公開番号 ()内は出願番号
平滑筋弛緩剤とその有効成分の抽出方法	小濱(群馬大) 田之倉 永田(東大)	2005-289898
IL-10を高産生する細胞およびその製造方法	八村(東大)	2005-080528
新規制限酵素 PabI	小林(東大)	2006-042642
無細胞タンパク質合成法を用いる新規ヌクレアーゼのスクリーニング方法	小林(東大)	2006-042643
トランスリンの3次元構造座標、及び該3次元構造座標の使用	河野(三菱化学)	2004-077229
NMR測定方法および該方法に用いるための構造物	河野(三菱化学)	2004-138545
蛋白質のNMR測定方法	河野(三菱化学) 遠藤(愛媛大)	(2003-032381) W02004/070371A1

アミノ酸選択的標識化蛋白質合成方法	河野（三菱化学） 遠藤（愛媛大）	2006-211902 W02005/010195A1
NMR シグナルの帰属方法	河野（三菱化学）	(2004-025592) W02005/073747A1
標的分子とリガンドあるいはリガンド候補化合物との結合検出方法	河野（三菱化学）	(2005-030898) (2005-067783)
脳移行活性を有するポリペプチド、およびその利用	澤田（藤田保衛大）	(2003-289890) (PCT/JP04/11668)
脳移行性骨髄前駆細胞	澤田（藤田保衛大）	(2004-298170)
非ワトソン-クリック塩基対-金属錯体	小野（都立大）	(2003-201500)
核酸固相合成用担体及びそれを用いた核酸合成	小野（都立大）	2005-229894
ゲラニルゲラニルグリセロールリン酸合成酵素の結晶	山岸（東葉大）	2005-046057
キサンチン酸化還元酵素変異体	西野（日医大）	2005-287414
無細胞タンパク質合成用胚芽の選別方法、及び無細胞タンパク質合成用胚芽抽出物の製造方法	遠藤（愛媛大）	2004-000188
ハイスループット合成システム	遠藤（愛媛大）	2006-042601
無細胞タンパク質合成系で作られた蛍光を利用した効率的なタンパク質の機能解析スクリーニングの方法	遠藤（愛媛大）	2005-308412 (PCT/JP05/007256)
翻訳効率制御活性を有する核酸塩基配列及びその利用	遠藤（愛媛大）	2003-556526 W02003/056009A1
無細胞タンパク質合成用胚芽抽出物の製造方法及び無細胞タンパク質合成方法並びに無細胞タンパク質合成用溶液	遠藤（愛媛大）	W02003/064671A1
無細胞タンパク質合成用細胞抽出液及びその製造方法	遠藤（愛媛大）	W02003/064672A1
タンパク質合成方法	遠藤（愛媛大）	W02003/072796A1
無細胞タンパク質合成用凍結乾燥製剤	遠藤（愛媛大）	W02003/095661A1
標識化単鎖抗体およびその利用	遠藤（愛媛大）	(2002-210067) W02004/009639A1
無細胞タンパク質合成用胚芽の選別方法および無細胞タンパク質合成用胚芽抽出物の製造方法	遠藤（愛媛大）	2004-159588
自動蛋白質合成方法及びそれを行うための装置	遠藤（愛媛大）	(2003-033009) W02004/070047A1
無細胞系合成システム	遠藤（愛媛大）	(2003-122930) W02004/097014A1
タンパク質チップ作製用試薬	遠藤（愛媛大）	(2003-288859) W02005/015212A1
生理活性タンパク質に対する薬剤の新規ハイスループットスクリーニング法	遠藤（愛媛大）	(2003-316081) W02005/024428A1
抗原物質の製造方法	遠藤（愛媛大）	(2003-333659) W02005/030954A1
指標物質の新規スクリーニング方法	遠藤（愛媛大）	(2003-353949) W02005/035780A1
高機能化無細胞合成用細胞抽出物及び該抽出物の調製	遠藤（愛媛大）	(2003-434080) W02005/063979A1
翻訳効率制御活性を有する核酸塩基配列及びその利用	遠藤（愛媛大）	2006-042676
組替えミオシン	小濱（群馬大）	2004-57152 W02004/011649A1
免疫細胞刺激活性を有する機能ペプチド	若松（群馬大）	(2006-267559)
新規 DNA ヘリカーゼ	石野（九大）	2004-121069
球状粒子を形成する新規タンパク質、およびそのタンパク質をコードする新規遺伝子	石野（九大）	2004-229612
DNAリガーゼ変異体	石野（九大）	2007-043963
新規 DNA 分解酵素	石野（九大）	(2006-148872)
臓器スライス方法及びその装置	中野（千葉大）	2004-177128
酵素機能電極、バイオセンサ、及び燃料電池	松下（山口大）	(2007-081714)
5. 本プロジェクトにおいて整備された研究設備及び育成された人材について ⁴		

< 研究設備 >

NMR(600MHz, Varian)、X線回折装置(リガク) 飛行時間型質量分析装置(島津)

< 育成された人材 >

ポスドク 27名

研究補助員 25名

上記人材は、プロジェクト終了後、各所属機関の助手や博士研究員(ポスドク等) 海外の大学や各企業で博士研究員として採用されており、研究、教育に携わっている。

6. 本プロジェクトの推進に係る技術開発に関する成果について

高等動物由来タンパク質の活性型発現のための小麦胚芽無細胞発現系の検討

愛媛大・遠藤、三菱化学生命研・河野が開発・改良を進めた小麦胚芽無細胞発現系を利用し、東大・田之倉、永田、福井(年度途中から北大)は、ヒト・マウス・カエル等の発生・分化に関わるタンパク質で、大腸菌発現系では活性型が得られない47種類について発現検定を行った。その結果、35種類のタンパク質の発現が確認され、うち11種類(全体の24%)の可溶性発現に成功し、高等動物由来のタンパク質発現における小麦胚芽無細胞発現系の優位性が再確認された。無細胞系は、ハイスループットで多検体の扱いが容易なため、小スケール機能解析やタンパク質発現の最適化(タグの種類や位置の選択、ドメイン境界の特定等)に有効である。

愛媛大・遠藤と東大・小林、田之倉は、小麦胚芽無細胞タンパク質合成系で、細胞死に関連するDNA分解酵素とそのセレノメチオニン標識体とを大量調製し、結晶化に成功し、3.0Å分解能の結晶構造を決定した。小麦胚芽由来無細胞タンパク質合成系を利用した結晶構造決定は、今までほとんど報告されておらず、DNA分解酵素のような細胞毒性が強いタンパク質の立体構造決定への道を開くことになると期待される。

三菱化学生命研・河野と群馬大・若松は、小麦胚芽無細胞発現系で安定同位体(¹³C, ¹⁵N)標識を可能にし、無細胞系で発現したタンパク質を精製せずにそのままNMR測定する系を確立した。この技術は、高効率NMR構造解析に大きく寄与している。

東大・中井と愛媛大・遠藤は、小麦胚芽無細胞発現系での発現量とアミノ酸配列や高次構造との関係をバイオフィオマティクス手法を用いて解析し、N末端近傍にランダムコイルやコイルドコイルが存在すると発現量が低下する傾向を見出した。さらに、発現量の増大に関連する構造的特徴の解析が進行中である。

分化や疾患に関連する膜タンパク質発現系の検討

東大・永田、田之倉、佐藤は、真核生物由来の膜タンパク質の発現のために酵母 *Pichia pastoris* を宿主として利用し、ヒトadrenaline受容体(7回膜貫通型Gタンパク質共役受容体)、ヒト抗糖尿病ホルモンadiponectinの受容体膜タンパク質AdipoR1(7回膜貫通型)の発現に成功した。また、原核生物由来の膜タンパク質の発現のために大腸菌を宿主とする系ではpETとpBADの2種類のベクターでの発現量比較を行い、pBADを利用して腸球菌の7回膜貫通型受容体の高発現に成功し、結晶化に成功した。さらに、原核生物の膜タンパク質高効率発現系を確立し、超好熱古細菌 *Aeropyrum pernix* の膜タンパク質20種類のうち、12種類の高発現に成功した。現在、これらの膜タンパク質の精製・結晶化を進めている。また、真核生物の膜タンパク質高効率発現系も作成し、現在その性能の評価を進めている。

東葉大・山岸は、構造解析用の膜タンパク質大量調製のために、大型ジャーファーマンターで好熱菌の培養を行い、可溶性タンパク質に比べて発現量が少ない膜タンパク質の試料調製に大きく貢献した。

不溶化した組換えタンパク質の試験管内巻き戻し法の確立

東大・永田、田之倉は、組換えタンパク質発現の際、不溶性となるタンパク質について、試験管中で活性型の立体構造を形成させる方法を検討した。ジスルフィド(SS)結合を有しないタンパク質については、すでに巻き戻し成功率80%以上の実績があり、巻き戻しタンパク質の結晶化にも成功しているため、SS結合含有タンパク質の巻き戻しの検討を進めた。3対や7対の分子内SS結合を有するタンパク質を標的分子として用いて巻き戻し法の検討を行い、活性型の立体構造を有するタンパク質を主要生成物として得ることに成功し、結晶も得られている。現在、この巻き戻し法の汎用性について種々の不溶化した組換えタンパク質を用いて検証している。

磁気力を利用した擬似無重力環境下での結晶化による結晶の質の向上

東大・田之倉は、超伝導磁石を用いて、宇宙空間の無重力環境に似た環境を地上で実現する装置をジャパンスーパーコンダクタテクノロジー(株)と共同で開発し、擬似無重力環境下でのタンパク質結晶化実験を行い、約半数の可溶性タンパク質結晶の分解能が向上することを実証した。今後、膜タンパク質の結晶化への応用を計画している。

タンパク質の立体構造に基づく創薬技術の開発

日医大・西野は、キサンチン酸化還元酵素の立体構造をもとに、この酵素の働きを阻害する抗痛風剤や抗活性酸素剤の開発を国内の製薬会社4社と共同で進めており、1つの化合物については、痛風治療薬としてアメリカで承認された。タンパク3000プロジェクトで得られた多数のタンパク質構造情報を創薬等の産業

移転に活かすために、キサンチン酸化還元酵素における成功例が他のタンパク質の場合にも応用可能と期待される。

タンパク質の凝集防止方法の開発

群馬大・若松、東大・田之倉の共同研究により NMR 測定に固有な条件によるタンパク質やペプチドの凝集を防止する方法を見出した。動的光散乱等で確認すると単分散であるタンパク質サンプルも、NMR を測定すると凝集したサンプルに特有のスペクトルを与える事がある。この原因は長らく不明であったが、NMR 測定条件そのものがタンパク質の凝集を引き起こしている事が本研究で明らかになった。凝集を起こさせる原因は、ガラス NMR チューブの表面、化学シフトの基準物質 (DSS) 重水中の不純物の 3 つである。これらの原因はそれぞれ、NMR チューブのシリコナイズ、DSS の代わりにジオキサンを使用する事、重水のイオン交換樹脂による精製によって除去できる事を確認した。これらの注意を払う事により、タンパク質サンプルの凝集が防止できるだけでなく、タンパク質の NMR サンプルの寿命が大きく延びる事も確認された。これらの方法はタンパク 3000 に参加しているグループには適宜伝達しており、良い反応を得ている。

また群馬大・若松は、タンパク質を安定化させる化合物をサンプルに添加するという積極的な方法も開発した。新規の凝集防止剤である NDSB-new は、市販の NDSB 類よりも凝集防止効果が強く、また比粘度も半分であり、凝集しやすいタンパク質やペプチドの NMR 解析に非常に有用であると期待される。実際に、G 蛋白質を活性化できる GPCR の部分ペプチド (m413C) と G 蛋白質 (Gi1) とを混合すると凝集沈殿が起こるが、NDSB-new を添加すると凝集は全く起こらなくなり、TRNOE 測定ができるようになった。また、タンパク 3000 に参加している 10 以上のグループにサンプルを提供しており、凝集防止に有用だったとの報告を半数以上から受けている。

7. タンパク質の機能解析に関する成果の概要について

当領域の研究対象となっているタンパク質は、神経系や免疫系の細胞の分化に関わるもの、魚類の初期発生に関わるもの、ショウジョウバエの脚や触角の分化や羽化の概日時計調節に関わるもの、微生物の DNA 複製・修復や細胞の形の決定に関わるもの、リウマチ・アルツハイマー病・痛風等の疾患に關与するもの、哺乳類の腸管における免疫調節や微生物との共生に關与するもの、など種々の興味深い機能を有するものであり、各個別機関で機能解析を進めている。その中で特に、技術的に特徴のある例として、タンパク質と他の分子の分子間相互作用解析の例を以下に示す。

- ・ 核磁気共鳴 (NMR) によるタンパク質に結合する薬剤の探索 心臓疾患に関わるタンパク質の変異体に結合する薬剤の結合・解離特性を NMR により解析した。正常タンパク質、変異タンパク質への薬剤の結合の強弱と結合部位とを特定することに成功した (東大・田之倉、永田、三菱化学・河野、都立大・小野、群馬大・若松)。
- ・ 表面プラズモン共鳴 (SPR) によるタンパク質間相互作用の解析 細胞内情報伝達に関わるタンパク質間相互作用の SPR による解析を進めている。この相互作用解析により、細胞内情報伝達で重要な役割を担う WW ドメインについて、リガンド特異性を決定する構造要因の特定に成功した。さらにドメインに限定せず、筋ジストロフィー・ハンチントン病・アルツハイマー病等のヒトの疾患に關与する WW ドメイン含有タンパク質全体の構造・機能解析を進めた (東大・田之倉)。
- ・ 超遠心によるタンパク質複合体形成の制御機構の解析 複数のサブユニットからなるタンパク質複合体に関して、タンパク質濃度や薬剤濃度を变化させた場合のタンパク質複合体の存在状態を分析超遠心により解析を進めた (東大・田之倉、東工大・有坂)。

8. これまでの評価に対する反映状況について

研究成果に関する評価について

平成 17 年度に「発生・分化と DNA の複製・修復」に直接関係するタンパク質の研究に集中するため、2 人の発生生物学者を分担者に加え、カエルの初期発生やハエの器官形成に重要なタンパク質群の調製、構造解析、機能解析を進めた。平成 18 年度にはヒトの転写制御因子のホモログの機能をショウジョウバエ成虫肢形成過程をモデルシステムとして用いて詳細に解析し、転写調節因子とその認識 DNA の三者複合体の立体構造を決定することができた。

産業移転の方向性としては、キサンチン酸化還元酵素の立体構造をもとにした、この酵素の働きを阻害する抗痛風剤や抗活性酸素剤の開発を国内の製薬会社 4 社と共同で進めており、タンパク質構造情報を創薬等の産業移転に活かすという形で実現化している。

グループ内の体制に関する評価

平成 17、18 年度に「発生・分化と DNA の複製・修復」に直接関係するテーマに合致しない分担者については、再委託を見直した。

中核機関代表者の田之倉を中心にして、各分担者が試料調製・提供、技術支援、情報提供を積極的に行うとともに、研究の方向性や進捗状況の確認も頻繁に行った。また、中核機関と再委託機関の共同研究だけでなく、再委託機関どうしの情報交換、共同研究も推奨し、グループ内の連携強化を図った。体制作りを推進

した。

9. 中核機関としての目標（解析数、特許出願数等）に対する達成度について（これまでの分担機関及びその課題の一覧を含めること）

構造解析数

中核機関の東大において、平成 14 年 4 月以降、120 個のタンパク質立体構造を決定し、そのうち 80 個の構造を PDB に登録した。領域の目標数（14 年度 4 個、15 年度 10 個、16 年度 12 個、17 年度 14 個、18 年度 20 個）の半分以上の構造決定を中核機関で行うことを目標にしていたが、実際にはこの目標の 2 倍の成果を挙げた。東大は、当領域領域内での中心的な役割を担っており、達成度は十分と考えている。

特許出願数

平成 14 年 4 月以降の特許出願は、中核機関の東大において次の 4 件であった。「平滑筋弛緩剤とその有効成分の抽出法」（東大・田之倉、永田）、「IL-10 を高産生する細胞およびその製造方法」（東大・八村）、「新規制限酵素 PabI」（東大・小林）、「無細胞タンパク質合成法を用いる新規ヌクレアーゼのスクリーニング方法」（東大・小林）。

これまでの分担機関及びその課題一覧

機関名	業務期間	業務担当者	業務題目
東京大学	H14.4～H19.3	田之倉 優	タンパク質の個別的解析プログラム（発生・分化と DNA の複製・修復） 薬物代謝関連酵素の構造解析 分化・疾患関連タンパク質の構造解析 疾患関連タンパク質の構造解析 新規の立体構造を持つ制限酵素の構造と機能の解析 バイオインフォマティクスによる研究支援
		祥雲 弘文 永田 宏次 佐藤 能雅 小林 一三 中井 謙太	
	H14.4～H17.3	八村 敏志	免疫細胞の機能の分化に関する遺伝子のクローニングと発現タンパク質の構造解析 ショウジョウバエの発生分化関連タンパク質の大量発現
		西郷 薫	
	H17.4～H18.3	福井 彰雅 (後任者)	初期発生に関わるタンパク質の同定及び機能解析
	H18.4～H18.9	道上 達男 (後任者)	初期発生関連タンパク質の機能解析
	H18.10～H19.3	高橋 秀治	同上
	H17.4～H19.3	小嶋 徹也	器官形成関連タンパク質の機能解析
	H18.4～H19.3	北 潔 / 鈴木 和男 宮園 浩平	NADPH 酸化酵素の機能解析 endoglin の機能解析
	H18.8～H19.3	清水 誠 太田 明德 牛島 廣治 長澤 寛道	チャネル形成性キノコ由来タンパク質の構造解析と細胞毒性発現機構解析 生体膜構成リン脂質の合成に関わる CTP:phosphoethanolamine cytidyltransferase の機能および構造解析 胃腸炎原因ウイルスであるノロウイルスのキャプシドタンパク質に対するモノクローナル抗体の構造解析 甲殻類血糖上昇ホルモンの構造・機能解析とエビ養殖への応用
㈱三菱化学 生命科学研究所	H14.4～H19.3	河野 俊之	発生・分化と DNA の複製・修復に関わるタンパク質の立体構造決定
東京薬科大学	H14.4～H19.3	山岸 明彦	DNA 複製および細胞分裂関連タンパク質の提供および膜タンパク質の大規模発現
日本医科大学	H14.4～H19.3	西野 武士	創薬情報およびヒトタンパク質試料の提供
愛媛大学	H14.4～H19.3	遠藤 弥重 太	小麦無細胞発現系の開発・改良および多検体の発現・可溶性検定
群馬大学	H14.4～H19.3	若松 馨	タンパク質凝集抑制剤の開発・複合体への応用および提供
	H14.4～H17.3	小濱 一弘	カルシウム感受性ミオシンと関連蛋白の構造と機能
九州大学	H14.4～H19.3	植田 正	DNA 複製・修復関連タンパク質試料の調製と提供、および機能・構造解析
	H14.4～H18.3	石野 良純	複製、組換え修復関連のタンパク質の構造、機能解析
山口大学	H18.4～H19.3	白井 睦訓	肺炎クラミジア SET とその複合体の機能解析

	H18.8~H19.3	松下 一信	酢酸発酵の鍵酵素の解析と酢酸の工業生産(エタノールから酢酸への変換)への利用
千葉大学	H14.4~H18.3	中野 實	哺乳類の生殖、発生及び分化に関わるタンパク質の高次構造解析
東京工業大学	H14.4~H17.3	田中 信夫 (後任者)	枯草菌の分化に関する蛋白質と極限微生物の細胞分裂に関する蛋白質の構造解析
	H17.4~H19.3	熊坂 崇	細胞分裂関連蛋白質の構造研究
	H14.4~H17.3	有坂 文雄	バクテリア細胞分裂関連遺伝子群の構造ゲノム科学
タカラバイオ(株)	H14.4~H18.3	佐川 裕章	タンパク立体構造解析用新規発現系を用いた幹細胞の分化に関する蛋白質の構造解析と機能解明
藤田保健衛生大学	H14.4~H17.3	澤田 誠	骨髄細胞・好中球の分化調節因子の機能解析と構造解析のための試料の大量調製
東京都立大学	H14.4~H17.3	小野 晶	同位体標識 DNA を用いる複製・修復関連蛋白質の構造決定
(独)農業生物資源研究所	H16.4~H18.3	山崎 俊正	組織分化及び形態形成を制御するタンパク質の構造機能解析
(株)海洋バイオテクノロジー研究所	H14.4~H16.3	丸山 正	超好熱古細菌をモデルとした発生と分化構造ゲノム科学
(株)生物有機化学研究所	H17.4~H18.3	石塚 朋弘	発生・分化と DNA の複製・修復に関わるタンパク質の発現系構築とタンパク質の調製

10. 中核機関として、外部への広報、分担機関を含むグループ内部での連携体制の確保への取り組みについて

外部への広報

東大・田之倉は、産学連携フォーラムで実行委員長として活動し、平成 19 年 2 月の総合シンポジウムにおいても講演を行って、タンパク 3000 プロジェクトの広報に努めた。また、当領域のホームページ (URL: <http://fesb.ch.a.u-tokyo.ac.jp/p3k/index.html>) に、当領域の研究目的や研究成果の公開に加え、一般の方にも分かりやすいよう用語解説も掲載して、情報発信を行っている。

分担機関を含むグループ内部での連携体制の確保への取り組み

中核機関代表者である田之倉の研究課題「発生・分化と DNA の複製・修復」関連タンパク質の構造解析・機能解析が効率よく滞りなく遂行されるように、各分担者が、試料調製・提供、技術支援、情報提供を行い、プロジェクトの進展に寄与した。田之倉は、各分担者と密接に連携を取りながら、グループ全体の舵取りをし、「発生・分化」と「DNA の複製・修復」への研究テーマの集中を図るとともに、本プロジェクトにより得られた構造解析・機能解析・技術開発の成果の産業移転や特許化について積極的に検討を進めた。具体的には年 3 回程度各分担者に構造解析・論文・特許等の詳細情報を報告してもらい、中核機関で集計、数値化することでプロジェクト全体の進捗状況を確認した。また 10 月に班会議を開催して、領域の評価の再確認と最終年度の成果報告会を行った。

平成 18 年度は 8 月から、タンパク 3000 プロジェクトにおける食品・環境等産業利用専門委員会の設置による業務の追加に伴う措置として、分担者を 4 名増やした。これによりタンパク 3000 プロジェクトの成果による食品・環境等分野での学術的支援とその産業利用促進による波及効果が期待できる。

11. 本プロジェクトにおける成果が我が国の科学技術発展及び産業応用に与えた効果について

種々の病気に原因となるタンパク質や、産業上有用な物質を生産するタンパク質の立体構造を明らかにしたことにより、病気の原因の解明や、それをもとにした治療薬の開発、あるいは新規有用物質を合成できる新規酵素の創製のために重要な基礎情報を与えた。一例として、西野(日医大)によるキサンチン酸化還元酵素(XOR)の立体構造に基づいた痛風治療薬開発が挙げられる。XOR 阻害剤は痛風や尿酸治療薬としての用途にとどまらず、メタボリック症候群、虚血障害(活性酸素障害)にも適用の可能性が広いと、国際的に多くの会社が競合している状態であり、その中でも国内企業がリードしている。本プロジェクトにおいて、我々は国内製薬会社が開発したいいくつかの阻害剤と XOR との複合体結晶構造を決定し、それらの阻害機構を解明した。帝人のフェブキソスタット(TEI-6720)は痛風、尿酸血症治療薬として米国で第 3 相臨床試験を終え、日本においても臨床試験を繰り返している。この日本発の新薬については昨年 11 月から発刊された Nature Rheumatology 創刊号の特集記事で大きく取り上げられている。その記事によればフェブキソスタットは 30 年ぶりに開発された尿酸生成阻害剤として大きな期待が寄せられており、また現在広く使われているアロプリノールと比べて優秀な臨床試験の成績を示している。三菱ウェルファーマ(Y-700)と富士薬品(FYX-051)の開発した薬剤は現在フェイズ 2 臨床試験が進行中である。これら抗痛風剤の阻害作用についての知見をもとに、本機関は国内製薬会社と協同で構造ベースかつ反応中間体のベースのドラッグデザインを試みており、成果をあげつつある。構造情報からフィードバックされた薬剤設計手法は有効であり、事前の予想通りタンパク質と相互作用を行っており、ラットを用いた in vivo での尿酸濃度抑制効果

も同様に満足のいくものである。ここで得られた薬剤設計の基盤情報は抗痛風剤のみならず広く阻害剤設計に応用できるものであり、他のタンパク質を目標とした薬剤設計への応用が現状で可能である。

また、本プロジェクトの遂行にあたって、小麦胚芽無細胞発現系、膜タンパク質発現系、不溶化したタンパク質の巻き戻し系の確立と応用を精力的に進めた。そのノウハウをプロジェクト内や産業界に移転することにより、今後のタンパク質研究に飛躍的な進歩をもたらすことが期待できると考える。一例として、小林（東大）が発見した新規制限酵素 PabI の構造・機能解析が挙げられる。このタンパク質は細胞毒性が極めて強く細胞系での発現は不可能であったが、遠藤（愛媛大）が開発した小麦胚芽無細胞発現系を利用して初めて大量発現に成功し、小麦胚芽系で調製された native および Se-Met 標識タンパク質を用いて、田之倉（東大）が結晶化および結晶構造解析に成功し、PabI が新規フォールドを有する制限酵素であることを明らかにした。このような 3 者の共同研究体制は本プロジェクトで当グループが結成されたからこそ実現したものである。この成果は、我が国オリジナルの技術である小麦胚芽無細胞発現系で合成されたタンパク質が結晶構造解析に応用可能であることを実証した最初の例であり、今後ますます細胞系で発現困難なタンパク質の調製において小麦胚芽系の重要性が認識されるようになり、産業分野での利用も拡大すると期待している。

最終年度（平成 18 年度）には、当グループの構造・機能解析成果をよりいっそう産業応用に結びつけるために、食品・環境分野および疾病分野の共同研究者を加え、食品生産・食品加工・有用物質生産に利用可能な酵素や情報伝達タンパク質およびウイルスやバクテリアの感染に関わるタンパク質の構造・機能解析を進めた。期間が短かったため、十分にまとまった成果は得られていないが、開始当初に実現していなかった可溶性発現や結晶化に成功し構造解析途中のものもあり、今後もこれらの構造・機能解析を進めることで、タンパク質の構造・機能解析の成果を産業応用に結びつけることができると期待している。

12. 各年度の委託費 (千円)	14 年度	15 年度	16 年度	17 年度	18 年度	計
	330,000	455,950	267,000	310,000	345,000	1,707,950
設備費(千円)	50,631	114,847	22,168	20,822	19,732	228,200
人件費(千円)	51,151	93,370	76,411	82,263	92,883	396,078
運営費(千円)	205,955	222,206	150,826	188,462	214,100	981,549
管理費(千円)	22,263	25,527	17,595	18,453	18,285	102,123

(別紙)

1. 構造解析を行ったタンパク質について

タンパク質名	PDB ID	状況	リリース日	当該解析のメリット及び重要性の概要	成果の産業移転先 (予定を含む)
ヒト EST1A PIN ドメイン	2DOK	Released	2007.5.1	出芽酵母由来 Est1p は、テロメア長の維持に必須なテロメラーゼ結合タンパク質である。hEST1A タンパク質はヒトの Est1p ホモログで、テロメア伸長の制御や、テロメアのキャッピングに関わると考えられている。hEST1A で保存された領域 PIN ドメインの結晶構造を 1.8Å の分解能で明らかにした。推定活性部位の阻害剤をデザインすることによって、効果的に働く薬剤の創出が可能になると期待される。	未定
ヒト Dicer RNase III ドメイン	2EB1	on hold		Dicer は、RNAi の反応過程に関わる重要な酵素で、ヒト Dicer の C 末端側 RNase III ドメイン領域の結晶構造を 2.0Å の分解能で決定した。この構造データはヒト Dicer の中では初めての部分構造であり、高等真核生物由来のドメインを解析することにより特徴的な構造を見出すことができ、また新たな生化学的な活性の知見も得た。	未定
制限酵素 PabI	2DVY	Released	2007.5.8	新しい立体構造を持つ DNA 配列認識タンパク質を探索するの、「モチーフからすぐ分かる修飾酵素 (DNA メチル化酵素) 遺伝子と共にゲノム間を動いている遺伝子のコードする、機能既知タンパク質と配列類似性のないタンパク質をねらう」という戦略で得られた、タンパク質として新しいワールドを持つ制限酵素。ベータシー	東洋紡績株式会社 (制限酵素と制限酵素の探索法の 2 件について、東京大学と東洋紡績から特許を出願、公開中。)

	転写調節因子 StEmrR	2GXG	Released	2007.3.20	<p>トからなる「ハーフパイプ」構造（竹筒を縦に割った半分）を、アルファヘリックスの束が挟んでいる。ハーフパイプに二重鎖 DNA がまっすぐな形で乗るドッキング・モデルが作られた。「DNA 上を滑っていき、制限配列を認識すると停止して、コンフォメーションを変えより深く DNA に噛みつき、切断する」という「モノレール・モデル」が考えられる。これは、制限酵素が「DNA 上をスライドするのか、ジャンプしながら進むのか」という長い論争に決着を与える可能性が高い。（ベータシートからなるパイプ構造として、真核生物の TATA ボックス結合タンパク質(TBP)が知られているが、DNA を大きく曲げる事によって上流のエンハンサーを遺伝子に近づける。）</p> <p>DNA 上を滑って行くという新しい性質を利用して、タンパク質工学技術から、様々な新しいタイプの DNA 操作タンパク質が作られる可能性がある。例えば、巨大 DNA 分子中の特定の配列のスキャンニングと操作、有用物質の DNA に沿ってのデリバリーなど、いくらかでも考えられる。</p>	
					<p>StEmrR(2GXG)は超好熱古細菌由来の転写調節因子である。この転写調節因子は MarR ファミリーに属すると予測されている。MarR ファミリータンパク質は、細菌の多剤薬剤耐性メカニズムの制御を行っている転写調節因子であり、ゲノム解析の結果から、多くの古細菌ゲノム中にも存在していることが知られている。結晶構造解析の結果、1.45 Å の分解能で構造決定でき、その立</p>	未定

古細菌由来 30S リボソーム RNA の成熟に関わるタンパク質(PH1566)	2E3U	on hold		体構造を解析することによって転写調節時におけるタンパク質の構造変化が推測できた。	未定
Thioredoxin	2E0Q	on hold		超好熱古細菌 <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 由来の Dim2p (PH-Dim2p。酵母 Dim2p とのアミノ酸配列相同性 26%) の立体構造を決定し、真核型リボソーム RNA 成熟過程における Dim2p の役割を解明することを目的としている。 Thioredoxin はジスルフィド結合を含む酸化還元タンパク質としてほぼすべての生命体に存在し、細胞内の酸化プロセスを制御し、細胞を守る重要なタンパク質である。さらに、thioredoxin は heat stable タンパク質としてタンパク質の耐熱性を理解するための重要なモデルタンパク質である。生育限界温度が 87 °C である超好熱菌 <i>Sulfolobus tokodaii</i> strain 7 由来 thioredoxin の構造を明らかにすることにより、耐熱性に寄与する構造上の特徴が見出された。	未定
Ginkbilobin-2	2E79	on hold		Ginkbilobin-2 (Gnk2) は、イチヨウの種子であるギンナンから同定した新規の抗真菌タンパク質である。Gnk2 は成熟型で 108 残基からなる分泌タンパク質として機能し、3 対のジスルフィド結合をもつ。Gnk2 のシステイン残基に富んだドメインは、病原菌感染応答性の受容体型タンパク質キナーゼの細胞外受容体ドメインとアミノ酸配列の相同性を有していることから、植物全般の自然免疫機構において重要な機能を担っている可能性が示唆されている。	未定
ST0812	2EJX	on hold		Sulfolobus tokodaii 由来 YjgF タンパク質 ST0811 に隣	未定

	thermolysin	2DGF 2DGG	on hold on hold		<p>接した遺伝子からコードされる機能未知のタンパク質である。各生物種において報告されている YjgF タンパク質の機能は多様であるが、隣接する遺伝子によってコードされるタンパク質との機能的相関が認められる。ST0812の立体構造は、コレステロール結合タンパク質の立体構造との相同性が認められ、コレステロールを含む脂質との結合能を有している可能性が示唆されている。</p>
				<p><i>Bacillus thermoproteolyticus</i> が産生する、金属プロテアーゼである thermolysin は、これまで、数多くの研究が行われてきた代表的な酵素である。京都大学 井上らにより、この酵素は NaCl に代表される中性塩により、顕著に活性化されることが報告された。この活性化には、選択性があること、溶液中のイオンの化学的性質の順序とは異なることより、イオンと thermolysin との相互作用が示唆された。我々は NaCl 非存在下 (2DGF), 4 M NaCl 存在下 (2DGG) の結晶構造を解析し、高濃度の NaCl による thermolysin 分子の構造変化を解析した。</p> <p>Thermolysin の結晶に対し、4M NaCl を導入し、2DGF と比較することにより、構造の変化を解析した。2DGF と 2DGG を比較すると活性部位にいくつかの構造の違いが認められ、このことが活性化に関与している可能性が示唆された。Thermolysin は、合成甘味料であるアスパルテームの酵素合成等で食品産業を筆頭に産業応用も広く行われており、その活性化機構の解明</p>	未定

						は、基礎科学での貢献のみならず、産業応用においても幅広い応用が期待できる。	
Human S100A13	2EGD	on hold				ストレス状況下での炎症因子分泌を制御するため、当該解析結果は抗炎症剤開発に利用できる。	なし
TT2238	2YQY	on hold				枯草菌 <i>Bacillus subtilis</i> の 19-kDa タンパク質 YfiT に対し 25% のアミノ酸配列相同性がある <i>Thermus thermophilus</i> のタンパク質 TT2238。機能未知であるが、金属プロテアーゼ活性を有する可能性がある。	未定
TthZP	2ECX	on hold				<i>Thermus thermophilus</i> HB8 由来のタンパク質であり、真核生物における MPP (Mitochondrial Processing Peptidase) のホモログであると予想されている。TTHA1264 はペプチダーゼ活性に必須な亜鉛結合部位およびその他の活性残基が保存されていた。ミトコンドリアを持たない原核生物において MPP ホモログが果たす役割を解明することは、原核生物やシグナルペプチダーゼの進化を考察する上で重要な知見を与える。	未定
PH0734	2OR5	on hold				RNA 結合ドメインである PUA ドメインを有する、超好熱古細菌 <i>Pyrococcus horikoshii</i> 由来のタンパク質。ヒト T 細胞悪性リンパ腫において発現量の増大する mct-1 遺伝子産物と 26% のアミノ酸一次配列相同性を有する。Mct-1 は他の転写因子と協働し、mRNA 5' 末端における転写調節に関わることが示唆されている。2OR5 も同様に古細菌の転写調節に関わる新規の機能を有すると考えられる。	未定
TTHA1429	2YQT	on hold				<i>Thermus thermophilus</i> HB8 由来のタンパク質であ	未定

					り、金属イオンである Zn^{2+} を有する（要求する）メタロ-ラクタマーゼ（亜鉛-ラクタマーゼ）系タンパク質である。	
古細菌由来 KaiC-like protein	2EHV	on hold			超好熱古細菌である <i>P. horikoshii</i> において六つの遺伝子はシアノバクテリア由来の KaiC と約 30% の相同性がある。しかし、 <i>Pyrococcus horikoshii</i> には KaiA と KaiB に相当するものはない。進化の過程で KaiA と KaiB は後に加えられたと考えられている。これまでに、シアノバクテリアの KaiC の構造が報告されているが、古細菌由来の KaiC の構造に関する報告はない。古細菌由来 KaiC-like タンパク質の構造解析を行うことによって KaiC を中心としたシアノバクテリアの circadian リズムに対する一層深い理解と KaiC の進化の過程で起こる現象が明らかになると思われる。	未定
TTHA1809	2YYS	on hold			β -hydrolase fold ファミリーは様々な機能、及び基質特異性をもつ最も大きなファミリーの 1 つである。TTHA1809 はこのファミリーに属する酵素であると考えられており、構造解析を行った結果、全体構造は β -hydrolase fold を持っていた。しかし、活性部位の比較を行ったところ求核残基が保存されていなかったことから、加水分解とは異なる機能を有していると考えられる。	未定
FBP11 WW1	1ZR7	Released	2006.5.30		神経細胞にとって必須のタンパク質でスプライシングを促進するほか、Huntington 病、Rett 症候群において神経変性を生じる凝集体の形成に関わる。四肢形成に必須な formin と相互作用する。	神経変性疾患の治療としての利用の予定

FBP11 WW1 - PL motif 複合体	1ZWQ	on hold		スプライシングを促進する因子として働くほか、Huntington 病、Rett 症候群において神経変性を生じる凝集体の形成に関わる。四肢形成に必須な formin と相互作用する。Formin との相互作用様式、あるいは huntington などとの相互作用様式は本複合体構造ときわめて類似性が高いと考えられている。	神経変性疾患の治療と しての利用の予定
MsAT	1WST	Released	2005.10.25	超好熱性古細菌 <i>Thermococcus profundus</i> 由来 MsAT(Multiple substrate Amino Transferase)は既存の AT に比べ広範なアミノ酸に作用し、高い耐熱性を持つ。広範な基質選択性は非天然型アミノ酸の合成に向けて研究が行われた結果、2-naphthylpyruvate、4-biphenylpyruvate、4-thiazolylpyruvate などが基質になることがわかってきた。将来、新規医薬品の大量生産など、さまざまな分野への応用が期待されている。	未定
flavin reductase HpaC	2D36 2D37 2D38	Released Released Released	2006.5.30 2006.5.30 2006.5.30	HpaC はフラビン還元酵素であり、the two-component nonheme flavin diffusible monoxygenases (TC-FDM) ファミリーの small component である。reductase component である HpaC は NAD(P)H を使い、フラビンの還元反応を触媒し、還元されたフラビンと酸素を利用して oxygenase component が基質の酸化をおこなう。好熱菌のタンパク質のため、耐熱性に優れており、化学、食品、医薬品などの産業分野への応用が期待される。	耐熱性有用酵素の開発 の予定。
単量体サルコシン酸化 酵素	1ZOV	Released	2006.5.23	本タンパク質（単量体型サルコシン酸化酵素、MSOX）は桿菌 <i>Bacillus</i> sp. <i>NS-129</i> 由来の酵素で、診断薬の成分として、血中のクレアチニンの定量に利用されている。	腎機能の指標である血 中クレアチニンの定量 用診断薬の改良のため

	1X25	Released	2006.2.7	<p>る。クレアチニンは筋肉に含まれるクレアチンの代謝産物で、血液を介して腎臓から尿中へ排泄されるため、血中のクレアチニン量は腎機能の指標として用いられる。MSOXの結晶構造を分解能 1.86 Å で決定し、リガンドがない状態の MSOX の活性部位が開構造と閉構造の 2 つのコンフォメーションをとることを見出した。この構造解析により、より高い活性を有する MSOX 変異体を設計することが可能になり、診断薬の改良に役立つと期待される。</p>	に利用される予定。
古細菌由来 YjgF ファミリー蛋白質 (ST0811)	1X25	Released	2006.2.7	<p>ST0811 は原核・真核で広範に保存されている YjgF ファミリーに属する古細菌由来蛋白質である。YjgF 蛋白質は種によって表現される機能が異なっており、結晶構造から ST0811 は哺乳類由来の YjgF 蛋白質に近い構造的特徴を持っていることがわかった。哺乳類由来 YjgF で機能が調べられている human hp14.5 と rat L-PSP は、single-strand RNA に対して RNase 活性をもち、無細胞発現系で転写を阻害することがわかっている。これらは細胞の分化時に発現が増加すること、癌細胞など増殖力の強い細胞では発現量が 10%以下に低下することから、細胞の増殖・分化に関わることが示唆されている。そのため、ST0811 など古細菌の YjgF 蛋白質も細胞の増殖で鍵となる蛋白質の一つだと推定される。</p>	未定
メダカ孵化酵素 HCE-1	1 V44	on hold		<p>メダカ孵化酵素 HCE-1 は、メダカの孵化時に卵膜を特異的に分解する酵素(金属プロテアーゼ・アスタシンファミリーの一種)である。卵膜は外敵から胚を守るため非常に硬化したタンパク質膜で形成されており、一般</p>	未定

CCAP (シヨウジヨウバエの甲殻類心臓作用性ペプチド)	1V46 1Y49	Released Released	2004.12.14 2005.11.30	<p>のプロテアーゼでは分解されない。つまり孵化酵素は卵膜を特異的に認識し、分解する機能を持つ分子である。本研究により孵化酵素としては初めて立体構造が決定された。</p> <p>相同性の高いプロテアーゼにザリガニ消化管より分泌される酵素アスタチンがあるが、こちらは基質特異性が低い。HCE-1 とアスタチンの立体構造を比較したところ、数残基が基質認識に重要な役割を担うことが示唆され、プロテアーゼの基質認識について重要な知見が得られつつある。この成果を利用することで、酵素の機能向上、基質特異性の向上など産業利用（食品・医薬品）への応用が考えられる。</p>	
aspergilloglutamic	1Y43	Released	2005.12.13	<p>甲殻類心臓作用性ペプチド (crustacean cardioactive peptide, CCAP) は、昆虫の脱皮行動とその概日リズムを制御する重要因子であり、その立体構造情報は新規殺虫剤の設計に役立つ (CCAP 遺伝子を欠させたシヨウジヨウバエの大部分が幼虫から蛹への脱皮に失敗して死ぬので、例えば CCAP と類似の立体構造を有する競争阻害剤は殺虫剤となりうる)。また、CCAP の受容体は、G-タンパク質共役型受容体 (GPCR) であることが明らかになっており、今後、リガンド-受容体複合体の構造解析を進める予定である。広範な薬物受容体として機能している GPCR のリガンド認識機構の解析に役立つ研究材料である。1V46 は 100% DMSO 中の溶液構造。1Y49 は 50% DMSO / 50% H₂O 中の溶液構造。</p>	新規殺虫剤の設計に用いる予定。
				aspergilloglutamic peptidase は、黒コウジカビが菌体	未定

peptidase				<p>外に分泌するタンパク質分解酵素である。その分泌量は、菌体の成長における特定の時期に一過的に上昇することが知られており、カビの発生分化の調節に関与している可能性が示唆されている。</p>	
脱硫酸素 DszB	2DE2 2DE3 2DE4	Released Released Released	2006.8.1 2006.8.1 2006.8.1	<p>土壌細菌 <i>Rhodococcus erythropolis</i> の持つ <i>dsz</i> オペロンは原油の主な有機硫黄化合物であるジベンゾチオフェン (DBT) をヒドロキシビフェニルに分解して脱硫酸する機能を持つ。 <i>dsz</i> オペロンは DszA、DszB、DszC、3種類の蛋白質により構成されるが、脱硫酸の最終段階を担う DszB の低い比活性や熱安定性が律速段階となっている。微生物による石油の脱硫酸を実用化するには DszB の触媒機構や低い熱安定性の原因を調べる必要がある。本研究では脱硫酸素 DszB の X線結晶構造を解析し、さらに基質との複合体構造を決定した。</p> <p>結晶構造により、DszB は二つの / 構造ドメインを持つペリプラズム基質結合蛋白質ファミリに属することとわかった。DszB と基質との複合体構造解析からは Cys27、His70 が活性残基であり、Phe や Trp 側鎖による疎水性相互作用による基質のピフェニル環認識機構が示唆された。DszB は基質の結合による構造変化を起し His70 が活性中心に導入されることから DszB の低い比活性は基質の結合効率によるもの考えられる。また、基質を含まない構造の活性中心にはグリセロール分子が強く結合していることから、基質非結合型での安定性を改善することが DszB の熱安定性向上の鍵であることが示唆された。</p>	<p>バイオリアクターでの石油の脱硫酸の研究がすすめられている。</p>

ヒラタケ由来 セリンプロテアーゼ ヒビター-POIA1	1V5I	Released	2005.3.8	<i>Pleurotus ostreatus</i> (ヒラタケ) 由来の POIA1 は 76 アミノ酸残基からなるセリンプロテアーゼインヒビターであり、サブチリシンのプロ配列、酵母のプロテアーゼ B インヒビターとそれぞれアミノ酸上の相同性を持つ。POIA1 がサブチリシンを強く阻害しつつ、分子シヤペロンとしても機能することから POIA1 とサブチリシンの複合体の構造解析を行った。この複合体の構造から、セリンプロテアーゼインヒビターの基質認識機構と同時に分子シヤペロンの機能に関する新しい知見が得られた。	未定
FRaseI	1V5Y 1V5Z	Released Released	2005.3.8 2005.3.8	海洋性発光細菌 <i>Vibrio fischeri</i> 由来のフラビン還元酵素 FRaseI は NAD(P)H を酸化し、還元 FMN を還元する活性を持つ。還元 FMN は発光反応など、様々な生体内反応に用いられる。FRaseI はクマリン類化合物により強く阻害されることが知られているが、その阻害機構はまだはっきりしていない。FRaseI と 4-ヒドロキクマリン酸 (1V5Y) オルソクマリン酸 (1V5Z) との複合体結晶構造解析からクマリン酸によるフラビン還元酵素阻害機構が明らかとなり、生物発光において重要な酵素である FRaseI の反応機構に関する新しい知見が得られた。	未定
AzoR (大腸菌由来のアゾ還元 酵素: Oxidized Form)	1V4B 2D5I	Released Released	2005.1.18 2006.5.16	AzoR はメチルレドットおよびエチルレドットを分解する大腸菌由来の酸化還元酵素である。アゾ化合物は製造が容易であり安定な化合物であることから、様々な用途で幅広く大量に使用されているが、環境汚染や遺伝子変異を引き起こすことも明らかになっている。そのため AzoR の立体構造情報は、マイルドな条件下でさらに効率よく	染料として使われ り、環境汚染や遺 伝子変異の原因とな っているアゾ化合物 を穏和な条件下で 効率よく分解する 酵素の設計に用い る

AzoR (大腸菌由来のアゾ還元酵素 : Reduced Form)	1V4C	on hold		<p>アゾ化合物を分解する酵素の設計へと繋がる。また本酵素は、電子供与体を NADH 特異的、補酵素を FMN とする DT-diaphorase 型酸化還元酵素 (EC 1.6.99.2) のはじめての例であることが本構造解析により明らかになった。</p> <p>AzoR はメチルレドおよびエチルレドを分解する大腸菌由来の酸化還元酵素であり、その立体構造情報はマイルドな条件下でさらに効率よくアゾ化合物を分解する酵素の設計へと繋がる。しかしながら、その様な酵素を設計するためには反応一連のメカニズムを原子座標レベルで解明する必要がある、本構造解析ではその反応の中間状態の 1 つである還元型 AzoR の立体構造を決定することができた。そしてこの立体情報と酸化型 AzoR の立体構造から、反応の中心となるアミノ酸残基や、基質との結合に関与するアミノ酸残基、プロダクトインヒビションのメカニズム解明へと繋がる有用な情報を得ることができた。</p>	<p>予定。</p> <p>染料として使われおり、環境汚染や遺伝子変異の原因となっているアゾ化合物を穏和な条件下で効率よく分解する酵素の設計に用いる予定。</p>
Carboxypeptidase1	1WGZ	Released	2005.5.28	<p>好熱菌のタンパク質のため、耐熱性に優れており、化学、食品、医薬品などの産業分野への応用が期待される。また、タンパク質工学的な利点としては、C 末端シークエンサの活用が期待される。</p>	<p>生化学の試薬としての利用。</p>
Gln amidotransferase (<i>Pyrococcus horikoshii</i> 由来)	1V42 2D7J 2Z0C	on hold Released on hold	2006.11.21	<p>Gln amidotransferase は Gln をアミド供与体として、アミド基をとりだし、ほかの物質をアミド化する酵素である。一般に synthetase のサブユニットとして働くことが多く、その例として GMP synthetase や carbamoyl phosphate synthetase がある。</p>	<p>未定</p>

	1V3Y	Released	2004.12.28	<p>今回 PDB に登録した超好熱古細菌 <i>Pyrococcus horikoshii</i> 由来の Gln amidotransferase は <i>E.coli</i> 由来のものと同じ相溶性がある。その構造解析の結果から <i>P.horikoshii</i> 由来酵素は <i>E.coli</i> 由来酵素と比較して、ループの数が少なくコンパクトになっていることが分かった。</p>	
<p>Peptide deformylase (<i>Thermus thermophilus</i> HB8)</p>	1V3Z	Released	2004.11.30	<p>Peptide deformylase は原核生物に高度に保存されており、生育に必須の酵素である。このため、新規の薬剤開発のターゲットのひとつとして注目を集めている。 <i>Thermus thermophilus</i> は遺伝子組み換え系が確立した生物の中で最も高温で成育する。よって、この生物が生産するタンパク質は高い耐熱性を有している。タンパク質の耐熱性獲得機構を解明することは基礎科学の観点から非常に興味深い。今回明らかにした立体構造は常温由来酵素と比較して明らかに異なる構造を含んでいた。我々は同時に行った生化学的解析により、<i>Thermus</i> 由来酵素が常温由来酵素とは異なった熱変性過程を経ることを見出し、これらの構造生物学、生化学の結果を総合的に考察し、原子レベルでの熱変性機構を明らかにすることも不可能ではない。</p>	未定
<p>超好熱性古細菌 <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 由来 Acylphosphatase</p>	1V3Z	Released	2004.11.30	<p><i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 は生育適温度が 98 °C の超好熱古細菌であるため、この古細菌が有するタンパク質の立体構造を解析することはタンパク質の耐熱化機構の解明につながる。Acylphosphatase は carboxy-phosphate bond を加水分解する酵素であり、現在確認されている酵素の中で最も小さい部類に入る。この特徴</p>	未定

					はタンパク質の耐熱化にかかわる部位を減少させるため、より詳細な耐熱化機構の解析が可能となる。自由な目的タンパク質を耐熱化出来るような技術が開発されれば、工業的なタンパク質利用の可能性が大きく広がると考えられる。	
CBP40(Metal-Free)	1Ij5	Released	2003.2.11	40-kDa カルシウム結合タンパク質。真性粘菌の細胞膜の損傷に応じて発現する。EF-hand ドメインを有する。	未定	
CBP40(Ca2+-Bound)	1Ij6	Released	2003.2.11	40-kDa カルシウム結合タンパク質。真性粘菌の細胞膜の損傷に応じて発現する。EF-hand ドメインを有する。	未定	
Molt-Inhibiting Hormone	1J0T	Released	2002.12.11	クルマエビの脱皮抑制ホルモン。脱皮ホルモンの生合成を抑制する。エビやカニの成育制御剤の設計につながる。	未定	
FKBP	1IX5	Released	2003.6.10	好熱古細菌 FK506 結合タンパク質。タンパク質のフォールディングを促進する。	未定	
P450nor	1XQD, 1ULW	Released	2004.10.26	P450nor はカビのミトコンドリアにおける脱窒系における鍵酵素である。P450 は通常はモノオキシゲナーゼとして働くが、P450nor は NO 還元酵素として働き、フラビンタンパク質など他の電子伝達タンパク質の助けなしに直接 NADH から電子を受け取るという、非常に特殊な反応を触媒する。このような機構は従来の生体電子伝達に例がなく、立体構造の解明が長い間待たれてきた。本構造は P450nor と NADH アナログとの複合体構造であり、NADH から直接ヒドライドイオンが NO に伝達する反応機構を明らかにした。	なし	
P450nor-PAAD	1J3O	Released	2003.10.14	NADH から P450 への直接電子伝達という、全く新規	未定	

pfgk	1UA4	Released	2004.2.27	な電子伝達の存在とその機構が明らかとなった ATPではなくADPを使ったキナーゼという、特殊な酵素の基質結合・反応機構が明らかになった	未定
tlpgi	1J3P 1J3Q 1J3R	Released	2004.2.24	好熱性古細菌のみに存在する cupin 型ホスホグルコイソメラーゼはこれまで知られている同酵素とは、フォルドから、全く構造が異なることが明らかになった	未定
キトビオースホスホシララーゼ (vpchbp)	1V7V, 1V7W, 1V7X	Released	2004.6.22	キトビオースホスホシララーゼはキトビオースを加里ン酸分解する酵素であり、糖転移酵素(GT)ファミリー36として世界で初めて構造解析された。構造決定の成果により、本ファミリーは糖加水分解酵素(GH)ファミリー15および65との相同性が認められ、GH-94への再分類がなされた。GTからGHへのクラス替えが行われたのも初めてであり、糖質関連酵素の分野へ与えた構造的なインパクトは極めて大きい。本酵素は逆反応により容易にオリゴ糖を合成できるため、新規有用オリゴ糖の合成など、産業上の利用価値も極めて高くなることが予想される。	なし
-L-アラビノフラノシダーゼ (arafb)	1WD3, 1WD4 2D43, 2D44	Released	2004.9.14, 2006.9.19	-L-アラビノフラノシダーゼはカビが分泌する細胞壁分解酵素であり、GH-54として世界で初めて構造解析された。本酵素には、アラビノース特異的な炭水化物結合モジュール(CBM)が付随していることが明らかとなった。側鎖特異的なCBMの発見は世界初であり、他の細胞壁分解酵素と組み合わせることにより、分解対象を特異的に制御出来る可能性が広がった。	なし
還元末端エキソオリゴ	1WU4,	Released	2005.2.22,	還元末端エキソオリゴキシラナーゼはキシロオリゴ糖	なし

キシラナーゼ (rex)	1WU5, 1WU6, 2DRO, 2DRQ, 2DRR, 2DRS	2006.6.27		還元末端のアノマー水酸基を特異的に認識して、基質の還元末端側の 1,4 キシロシド結合をアノマー反転型機構で加水分解し、キシロースを遊離するエキソ型の酵素であり、非常にユニークな基質特異性を持つ。さらに、反転型酵素として初めてオリゴ糖を合成出来るグライコシンターゼ化に成功し、それら変異体の結晶構造も決定した	
セロビオースホスホリラーゼ(ctcbp)	2CQS, 2CQT	2006.5.16	Released	セロビオースホスホリラーゼはセロビオースを加リン酸分解する酵素であり、キトビオースホスホリラーゼと共に GH-94 に分類される。本酵素を利用したスクロースを原料としたセロビオースの安価な大量合成法が確立されており、工業利用も期待される。	なし
GH11 キシラナーゼ (csxynb)	2DEP	2007.1.16	Released	本構造からキシラナーゼの至適 pH の調節機構の詳細が明らかとなった。糖質分解酵素のアルカリ性および酸性環境での利用に向けてのタンパク質工学に寄与する。	なし
β-グルコシダーゼ (BGL1A)	2E3Z, 2E40	2007.3.20	Released	木材を分解する白色腐朽菌由来の糖質分解酵素の構造を明らかにし、既知の β-グルコシダーゼとは大きく異なる基質認識機構を明らかにした。木質バイオマス分解能力の高い酵素を創出するためのタンパク質工学に寄与する。	なし
ヒト腎臓ジペプチダーゼと薬物の複合体	1ITU	2002-08-28	Released	腎臓で代謝されない抗生物質の開発	未定
ヒト腎臓ジペプチダーゼ	1ITQ	2002-08-28	Released	腎臓で代謝されない抗生物質の開発	未定
抗紫外線損傷DNA抗体	1KEG	2002-11-15	Released	DNA の 6-4 光産物を特異的に認識する。DNA 損傷の検	未定

Fab					出と分離など、産業上の利用の可能性がある。	
プロテインスピライシ ング蛋白質	1UM2	Released	2004-09-22		蛋白質の切り継ぎ反応 protein splicing は、一本鎖のリペプチド鎖から、中央部分を切り出し、両サイドの部分を連結する。切り出される蛋白質は DNA のホーミングエンドヌクレアーゼであり、自己の遺伝子の組み込みホーミングを行う。 protein splicing 反応は、自己触媒的なポリペプチド連結を行う。その機構の理解は、調製が困難な蛋白質を調製するための有用な知見となる。得られた構造は、反応の初期過程の中間体に相当するものであり、反応機構の理解と応用を高める。	未定
抗体抗原複合体	1UJ3	Released	2004-07-25		外因性血液凝固系の組織因子 Tissue factor (TF) は、血液凝固を引き起こす上位に存在するタンパク質であり、このものを阻害する物質は、次代の有効な血栓治療となる。この TF と結合してその機能を阻害する抗体は、それ自身が医薬品として期待されている。これらの複合体の構造が得られたことから、その構造知見をもとに、新たな抗血栓薬の設計が可能になると期待される。	新規な抗血栓薬の開発に重要
ヒト MD-2 蛋白質	2E56	HPUB: hold until publication			MD-2 蛋白質それ自身が脂質と複合体を形成している構造であり、敗血症の治療薬の開発に有効	未定
ヒト MD-2 蛋白質とエ ンドトキシンアング ニスト lipid IVa 複合体	2E59	HPUB: hold until publication			MD-2 蛋白質がエンドキシンのアングニストである lipid IVa と複合体を形成している構造であり、敗血症の治療薬の開発に有効	未定
TPK I ADP	1J1C	Released	2003/12/3		神経細胞の発生・分化に重要な役割を果たすキナーゼである。アルツハイマー病の発症にも強く関与することが	三菱化学グループ各社

						わかっている。アルツハイマー病の治療薬の設計につながる。			
TPKI AMPPNP	1J1B	Released		2003/12/3		神経細胞の発生・分化に重要な役割を果たすキナーゼである。アルツハイマー病の発症にも強く関与することがわかっている。アルツハイマー病の治療薬の設計につながる。			三菱化学グループ各社
Translin	1J1J	Released		2003/12/6		一本鎖の DNA または RNA に結合し、DNA の複製・修復に関わる蛋白質である。DNA,RNA 結合モチーフを持っているので、塩基特異性を立体構造上の観点から明らかにすることで、任意の塩基に結合する DNA,RNA 結合モチーフの創製に役立つ。			三菱化学グループ各社
d-CTX TxVIA	1FU3	Released		2002/9/20		イモ貝由来の神経毒で、ナトリウムチャネルの open form に結合する。構造を詳細に解析することにより、Na チャネルの特異的阻害剤（鎮痛剤など）の設計につながる。			三菱化学グループ各社
□-CTX MVIIC analog	1V4Q	Released		2005/3/1		P/Q 型と N 型の両方の Ca チャネルに結合する、イモガイの毒である □-CTX MVIIC の変異体のうち、当研究所で作成された P/Q 型の Ca チャネルだけを特異的に阻害する変異体である。P/Q 型の Ca チャネルだけに特異的に結合する世界で初めての分子なので、構造を詳細に解析することにより、Ca チャネルのサブタイプ特異的阻害剤（鎮痛剤など）の設計につながる。			三菱化学グループ各社
TraR domain	1V4R	Released		2005/3/1		枯草菌の DNA の複製および水平伝搬にかかわる DNA 結合蛋白質である。DNA 結合モチーフを持っているので、塩基特異性を立体構造上の観点から明らかにするこ			三菱化学グループ各社

					とで、任意の塩基対に結合する DNA 結合モチーフの創製に役立つ。	
Spinoxin	1V56	Released	2005/3/1		毒グモ由来のタンパク質で、K チャンネルを特異的に阻害するペプチドである。この詳細な立体構造は鎮痛剤の開発などに役立つと考えられる。	三菱化学グループ各社
Covalitoxin-I	1V5A	Released	2005/3/1		各種チャネル阻害ペプチドと S-S 結合の配置が似ている抗菌ペプチドである。殺虫剤の設計などに役立つと考えられる	三菱化学グループ各社
Aptotoxin VII	1WQB	on hold			各種チャネル阻害ペプチドと S-S 結合の配置が似ている抗菌ペプチドである。殺虫剤の設計などに役立つと考えられる	三菱化学グループ各社
SGTx I	1LA4	Released	2003/3/28		毒グモ由来のタンパク質で、K チャンネルを特異的に阻害するペプチドである。この詳細な立体構造は鎮痛剤の開発などに役立つと考えられる。	三菱化学グループ各社
Ficolin FD1	2D39	Released	2006/12/12		自然免疫において異物を認識する。免疫力増強の方法開発に役立つと考えられる。	三菱化学グループ各社
Pentakittide Chromone Synthase	2D3M	Released	2006/10/24		ポリケタイドを合成する。機構を詳細に解析し、変異体を作成することにより、新しい薬物の合成方法として使える可能性が高い。	三菱化学グループ各社
P55 PDZ domain	2EV8	Released	2006/10/10		赤血球の発生・分化にかかわるタンパク質である。細胞膜を裏打ちし、protein 4.1 とグリコフォリン C と三者複合体を形成して、細胞の構造維持に重要な役割を果たしている細胞骨格蛋白質である。その PDZ ドメインはグリコフォリン C の C 末端側領域を特異的に認識し結合する。細胞の構造維持の機構が詳細に明らかになると	三菱化学グループ各社

Pentakitide Chromone Synthase (M207G)	2D51	Released	2006/11/14	ともに、p55 の異常により引き起こされる病気の治療に役立つ可能性がある。 ポリケタイドを合成する酵素の変異体で野生型とは異なる基質と生成物を持つ。機構を詳細に解析し、さらに、変異体を作成することにより、新しい薬物の合成方法として使える可能性が高い。	三菱化学グループ各社
Pentakitide Chromone Synthase (M207G) with CoA	2D52	Released	2006/11/14	ポリケタイドを合成する酵素の変異体で野生型とは異なる基質と生成物を持つ。機構を詳細に解析し、さらに、変異体を作成することにより、新しい薬物の合成方法として使える可能性が高い。	三菱化学グループ各社
Mastoparan-X Membrane bound form	2CZP	Released	2006/7/4	G タンパク質を直接活性化することが知られており、GPCR の良いモデルになると考えられている。膜に結合した状態でGタンパク質を活性化するので、本研究で固体系NMRを用いて決定した膜結合状態での立体構造は、GPCRによるGタンパク質の活性化機構を理解し、新しい薬物の設計に役立つと考えられる。	未定
HIV2-NCp8-f1-N11A	2DI2	Released	2007/3/13	HIV2 のヌクレオキャプシドタンパク質は2つのZnフィンガー領域が繋がってできているが、そのうちの1つ目のZnフィンガー領域で、野生型と異なる立体構造を持つ変異体の立体構造である。HIV2のウィルス形成機構が明らかになり、治療薬の設計に役立つと考えられる。	未定
HIV2-NCp8-f2	2E1X	on hold		HIV2 のヌクレオキャプシドタンパク質は2つのZnフィンガー領域が繋がってできているが、そのうちの2つ目のZnフィンガー領域の立体構造である。HIV2の	未定

					ウィルス形成機構が明らかになり、治療薬の設計に役立つと考えられる。	
HIV2-NCp8-full	2EC7	on hold			HIV2のヌクレオキヤプシドタンパク質は2つのZnフィンガー領域がつながってできているが、その全長の立体構造である。HIV2のウィルス形成機構が明らかになり、治療薬の設計に役立つと考えられる。	未定
Gia1 K349P mutant	2EF3	on hold			Gタンパク質でレセプターを活性化しない変異体(K349P)の立体構造である。野生型の立体構造と比較することにより、GPCRによるGタンパク質の活性化機構を理解し、新しい薬物の設計に役立つと考えられる。	三菱化学グループ各社
P55 PDZ domain / GPC complex	2EJY	on hold			赤血球の発生・分化にかかわるタンパク質である。細胞膜を裏打ちし、protein 4.1とグリコフォリンCと三者複合体を形成して、細胞の構造維持に重要な役割を果たしている細胞骨格蛋白質である。そのPDZドメインはグリコフォリンCのC末端側領域を特異的に認識し結合する。本構造は、p55のPDZドメインとグリコフォリンCのC末端領域との複合体の立体構造である。細胞の構造維持の機構が詳細に明らかになるとともに、p55の異常により引き起こされる病気の治療に役立つ可能性がある。	三菱化学グループ各社
CRYSTAL STRUCTURE OF A RAT XANTHINE DEHYDROGENASE TRIPLE	1WYG	released	2005.05.31		哺乳動物キサンチン酸化還元酵素はNAD+を電子受容体とする脱水素酵素型と酸素を電子受容体とする酸化酵素型とに活性変換する。酸化酵素型は酸素を還元し活性酸素を生成する。最近この変換現象が乳汁分泌へ関与しているとの報告がある。また、酸化酵素型は活性酸素	未定

MUTANT (C535A, C992R AND C1324S)				生成を介したシグナル伝達を行ない発生分化に関与する可能性が指摘されている。 本構造は活性変換に必要なシステイン残基を変異させた酵素であり、酸化酵素型への変換が生じない。本酵素を実験動物にノックインすることにより発生分化、乳汁分泌における本酵素の関与を明かにできると期待される。	
CRYSTAL STRUCTURE OF BOVINE MILK XANTHINE DEHYDROGENASE TEI-6720 BOUND FORM	1N5X	Released	2003/3/18	本構造は帝人ファーマ(株)の開発した化合物 TEI-6720 とキサンチン酸化還元酵素(XOR)の複合体結晶構造である。XOR は乳汁分泌への関与、発生分化における活性酸素生成を介したシグナル伝達を行なっている。TEI-6720 は本酵素活性を強力かつ特異的に阻害することにより発生分化、乳汁分泌における機能の解明に有用なツールとなる。 XOR はヒトにおけるプリン排泄系の最終段階を触媒するため、XOR の阻害剤は痛風治療薬としても利用される。また阻害剤は本酵素による活性酸素生成を阻害し、組織保護剤としても働く。本構造は痛風治療薬の阻害機構解明、あるいはさらなる強力な阻害剤開発のための知見を得るために重要である。	(株)帝人ファーマ
CRYSTAL STRUCTURE OF BOVINE MILK XANTHINE DEHYDROGENASE FYX-051	1V97	released	2004.06.22	本構造は富士薬品の開発した化合物 FYX-051 とキサンチン酸化還元酵素(XOR)の複合体結晶構造である。XOR は乳汁分泌への関与、発生分化における活性酸素生成を介したシグナル伝達を行なっている。FYX-051 は本酵素活性を強力かつ特異的に阻害することにより発生分化、乳汁分泌における機能の解明に有用なツールとな	(株)富士薬品

BOUND FORM				<p>る。</p> <p>FYX-051 は XOR の基質であり、安定な反応中間体を形成するため、本構造の解明により XOR に特有の水酸化反応機構が明らかになった。</p> <p>XOR はヒトにおけるプリン排泄系の最終段階を触媒するため、XOR の阻害剤は痛風治療薬としても利用される。また阻害剤は本酵素による活性酸素生成を阻害し、組織保護剤としても働く。本構造は痛風治療薬の阻害機構解明、あるいはさらなる強力な阻害剤開発のための知見を得るために重要である。</p>	
BOVINE MILK XANTHINE DEHYDROGENASE Y-700 BOUND FORM	1VDV	Released	2004.12.21	<p>本構造は富士薬品の開発した化合物 FYX-051 とキサントシン酸化還元酵素(XOR)の複合体結晶構造である。XOR は乳汁分泌への関与、発分化における活性酸素生成を介したシグナル伝達を行なっている。FYX-051 は本酵素活性を強力かつ特異的に阻害することにより発分化、乳汁分泌における機能の解明に有用なツールとなる。</p> <p>XOR はヒトにおけるプリン排泄系の最終段階を触媒するため、XOR の阻害剤は痛風治療薬としても利用される。また阻害剤は本酵素による活性酸素生成を阻害し、組織保護剤としても働く。本構造は痛風治療薬の阻害機構解明、あるいはさらなる強力な阻害剤開発のための知見を得るために重要である。</p>	(株)三菱ウエルファーマ -
Human Xanthine Dehydrogenase	2E1Q	on hold		<p>"哺乳動物の XOR は活性酸素を生成する型へ構造変換し、その活性酸素が発生、分化におけるシグナル伝達をなっているとする説がある。また XOR は乳汁中に大</p>	未定

					量に存在し、乳汁分泌、分泌感染防御等に関与している。XOR とその特異的な阻害剤との複合体結晶構造は XOR の生理的機能、活性酸素生成メカニズムを解明するのにも有用である。ヒト酵素は特に創薬（抗痛風剤、抗活性酸素剤）のベースとして重要なタンパクである。	
Rat Xanthine Dehydrogenase, W335A and F336L Mutant	2E3T	on hold			本構造は活性変換に必要なシステイン残基を変異させた酵素であり、脱水素酵素型への変換が生じない。さらに酸素を還元して生じる生成物のうちスーパーオキサイドアニオンを特異的に産生する。本酵素を実験動物にノックインすることにより発生分化、乳汁分泌、その他のさまざまな病態における本酵素の関与と活性酸素の役割を明かにできると期待される（特許取得済み）	未定
human phosphoglycerate kinase I	2DI6	on hold			phosphoglycerate kinase は解糖系の酵素であり、ATP からホスホグリセリン酸へのリン酸基の転移、そしてその逆反応を触媒する酵素である。胎盤に極めて多量に存在する。部分欠損患者は中枢神経系の障害、筋肉痛、再生不良性貧血を呈するが、その病態はいまだ不明である。	未定
Human Xanthine Dehydrogenase	2D6G	on hold			本構造は活性変換に必要なシステイン残基を変異させた酵素であり、酸化酵素型への変換が生じない。本酵素を実験動物にノックインすることにより発生分化、乳汁分泌における本酵素の関与を明かにできると期待される。	未定
Rat Xanthine Dehydrogenase, W335A and F336L	2D6H	on hold			哺乳動物の XOR は活性酸素を生成する型へ構造変換し、その活性酸素が発生、分化におけるシグナル伝達になっ	未定

Mutant					量に存在し、乳汁分泌、分泌感染防御等に関与している。XOR とその特異的な阻害剤との複合体結晶構造は XOR の生理的機能、活性酸素生成メカニズムを解明するのにも有用である。ヒト酵素は特に創薬（抗痛風剤、抗活性酸素剤）のベースとして重要なタンパクである。	
Bovine Xanthine Dehydrogenase	2D6J	on hold			哺乳動物の XOR は活性酸素を生成する型へ構造変換し、その活性酸素が発生、分化におけるシグナル伝達を大にしているとする説がある。また XOR は乳汁中に大量に存在し、乳汁分泌、分泌感染防御等に関与している。本酵素はスーパーオキシドアニオンを特異的かつ大量に産生する変異酵素であり、培養細胞内で発現させることにより、発生の各段階における活性酸素のシグナル伝達が解明されると期待できる。またガン組織に取り込まれることによりガンミサイル両方への応用も期待される。	未定
Bovine Xanthine Dehydrogenase	2D6X	on hold			哺乳動物の XOR は活性酸素を生成する型へ構造変換し、その活性酸素が発生、分化におけるシグナル伝達を大にしているとする説がある。また XOR は乳汁中に大量に存在し、乳汁分泌、分泌感染防御等に関与している。本酵素は天然に存在する不活性型酵素であり、活性酸素生成、基質水酸化機構を理解する上で有用である。	未定
Gln-25 RNase T1	1IYY	Released	2003.10.07		安定性の異なる 2 種類の酵素の構造を比較することによって、酵素を安定化するための戦略が得られる。	なし
Myosin II	2BL0	Released	2005.10.13		細胞の分化に関与する myosin は Ca イオンの結合により活性化調節されるが、通常とは異なる形式の Ca イオン結合を見いだした。Ca イオンによる調節に多様性がある。	なし

Hef	1J22 1J23 1J24 1J25 1WP9 1X2I	Released	2003. 4. 22 2003. 4. 22 2003. 4. 22 2003. 4. 22 2005. 2. 1 2005. 9.13	<p>ることが示唆された．</p> <p>Hef は 我々が世界で初めてアークキアから同定した修復蛋白質であるが、そのヒトホモログの機能欠損がファンコニ貧血という遺伝病の原因になることが今夏明らかになり、その構造・機能解析は極めて重要な意味を持つことが証明された。また、この酵素は複製フォーク構造を特異的に認識するために、遺伝子工学試薬としての価値も有する。</p>	我々が2001年に出版した特許は東洋紡(株)が買い取り、研究開発を進めている。
DNA Ligase	2CFM	Released	2006.7.12	DN リガーゼは組換え DNA 作成に必要な酵素であり、そのマーケットは世界中に広がっている。我々は超好熱菌の DNA リガーゼの機能・構造解析を行い、得られた構造情報をもとに、DNA 結合能の上昇した変異体を作成し、出版した。これを利用して技術開発を進めている。	我々が本年出版した特許は(株)日立製作所が買い取り、引き続き研究開発を行う。
PCNA	1IZ4 1IZ5	Released	2003. 4. 1 2003. 4. 1	我々が構造決定によって明らかにした PCNA の環状構造形成様式を基に、環状構造が不安定化した PCNA を作成し、それを遺伝子工学技術に応用した。これを用いた試験管内遺伝子増幅技術は実用的であり、PCR 市場は世界的に莫大な規模なので、製品化した際の有用性は極めて大きい。	PCNA の構造については出版はしていないが、この変異体を用いた技術開発については本年出版し、CLS 社において製品化試験が続けられている。
PCNA complexed with RFCL PIP-box peptide	1ISQ	Released PCNA	2002.5.8	PIP box peptide 複合体。DNA 複製および組換え修復過程で働くタンパク質。	未定
Mouse lysozyme	1IVM	Released	2003.6.24	マウスリゾチーム変異体に対するマウスの抗体(自己抗体)が産生されることが見いだされている。自己抗体がマウスリゾチームのどのような領域を認識しているの	予定無し

					か、それがどのような意味を持つのか、構造生物学的に理解するためには、マウスリゾチームの立体構造の解析は必須である。	
HSPQ	1VBV	Released	2005.10.4		HspQは大腸菌のDNA複製開始因子DnaAと相互作用しその分解に関与することが推定されている。今回の解析により活性部位、タンパク質との相互作用部位候補が推定された。さらなる機能解析でDnaAに特異的な新規分解カスケードが発見されることが期待される。	予定無し
PriB	1WOC	Released	2005.1.25		PriBは、大腸菌のDNA複製停止後の再複製でプライモソーム複合体が形成される。これに関与する複数の蛋白質が同定されているものの詳細な構造、機能は分かっていない。そのような状況下でPriBの構造を明らかにした事はプライモソームの分子機構を明らかにする上で重要であった。さらなる解析で、複製開始の初期段階に形成されるプレプライモソーム複合体中で起きている蛋白質 蛋白質間および核酸 蛋白質間の相互作用状態を知ることが期待される。	予定無し
CedA	2D35	on hold			大腸菌 dnaAcos 低温感受性変異株は DNA 複製が過剰におこり、細胞分裂が阻害される。CedA は約 10kDa の塩基性タンパク質であり、dnaAcos 低温感受性変異株に起こる細胞分裂の阻害を再活性化する因子として同定されたものである。CedA の機能を明らかにすることは DNA 複製の新規関連因子の同定、大腸菌の細胞分裂機構の解明につながると考えられる。しかし、一次構造情報からは類似の分子がなくその機能に関しては全く情報がない。よって分子構造の解明により、CedA の	予定無し

DnaA N-terminal domain	2E0G	release 予定	2007.05.01	機能を推定することが可能であると考えられる。 大腸菌 DNA複製開始因子の DnaA (全長 467 残基) は 4 つのドメインに分かれており、それぞれのドメインが特徴的な機能を持っている。すなわち、ドメイン I 及び II は DnaA 自身の多量体形成や DnaB-DnaC 複合体の複製開始部位 OriC への導入に関与しており、また、ドメイン III は ATP との結合、ドメイン IV は DNA との結合にそれぞれ関与している。そこで我々は、NMR を用いて、DnaA のドメイン I + II の構造解析を行った。今回 DnaA ドメイン I+II の立体的構造が解かれたことで DNA 複製開始時における多量体形成機構や DnaB-DnaC 複合体の導入におけるメカニズムなど、DnaA の機能が原子レベルでさらに明らかになることが期待できる。	予定無し
XylB (Xylanase B from <i>Thermotoga maritima</i>)	1VBR, 1VBU	Released	2005/06/28	細菌の細胞分裂の際に必要な細胞壁分解酵素である。製紙産業の紙の漂白過程での利用が検討されている。	未定
Tt-PAPT (Polyamine Aminopropyltransfere from <i>Thermus thermophilus</i>)	1UIR	Released	2003/08/05	高度好熱菌は高温での DNA 構造安定化に必要なポリアミンの種類が豊富である。そのポリアミン合成の中核をなす酵素の構造解析ができた。	未定
STAM (STAM2 SH3 domain in complex with a UBPY-derived peptide)	1UJ0	Released	2003/12/23	ヒトを始めとする高等生物の細胞情報伝達の中心的役割を担っている SH3 ドメインについて、新規認識モチーフに関する知見を得ることができた。	未定

RsbQ (from <i>Bacillus subtilis</i>)	1WOM, 1WPR	Released	2005/02/01	RsbQ は PAS ドメインを持つ RsbP のリガンドを提供する重要な役割を持ち、その構造が明らかになった。また、構造からリガンド受け渡しのメカニズムを示唆することが出来た。	未定
Rck/P54 (A Human Dead-Box Protein)	1VEC	Released	2004/04/13	ATP 依存 RNA ヘリカーゼである本酵素は、mRNA の翻訳制御に重要な役割を果たしている。染色体の転座によって高発現される本タンパク質は、細胞の癌化と深く関与していると考えられているため、創薬ターゲットとしての利用が考えられる。	未定
St-IPMDH (Isopropylmalate dehydrogenase from <i>Sulfolobus tokodaii</i>)	1WPW	Released	2004/10/05	イソプロピルリンゴ酸脱水素酵素 (IPMDH) は、ロイシン生合成経路に属する酵素で、耐熱性のモデル酵素としての研究が進んでいる。超好熱菌由来の IPMDH の構造解析は初めてであり、この構造からタンパク質の安定性に対する新たな知見が得られると期待される。	未定
3C-like protease (from Norovirus)	1WQS	Released	2005/10/04	ウイルスの成熟に必要な Cys プロテアーゼの解析を行った。食あたりなどに関連する本ウイルスの治療薬としての阻害剤デザインへの応用が期待できる。	未定
BglF	2HYK	on hold		本構造は beta-1,3-グリコシド結合を加水分解する酵素として初めて報告されたものである。類似的構造に beta-1,3-1,4 結合が混在するグルカンの beta-1,4-結合を分解する beta-1,3-1,4-gluconase があるが、活性部位周辺のループ構造が本酵素のほうが基質側に張り出し、より厳密な糖鎖構造を認識することが分かった。	未定
CDA (Cytidine)	1ZAB,	Released	2006/04/11	本酵素は Cytidine から Uridine への変換を主として司	未定

deaminase mouse)	from	1WSQ, 2FR5, 2FR6	on hold Released Released	2006/07/11 2006/07/11	るが、抗癌剤の代謝能を持っている。抗癌剤のデザインや、代謝能力を高めて副作用を低減する酵素の作成などの応用が期待できる。	
Suliredoxin Sulfolobus tokodaii)	(from Sulfolobus tokodaii)	2D4S, 2D4T	on hold		本蛋白質は耐熱性菌 Sulfolobus tokodaii から得られる Rieske 蛋白質で、2Fe-2S クラスターを有している。解析の結果、この種の蛋白質としては初めて一方の鉄原子が失われた構造が得られた。この結果はクラスターの形成・解体の新しい知見を与えるものと期待される。	未定
XynJ sp.)	(from Bacillus	2DCJ, 2DCK	Released	2007/03/20	細胞壁分解酵素である。アルカリ性条件に最適条件を有する点から製紙産業の紙の漂白過程での利用が検討されている。	未定
2-deoxy-scyllo-inosose synthase Sulfolobus tokodaii)	(from Sulfolobus tokodaii)	2D2X, 2GRU	Released on hold	2006/10/03	本酵素は抗生物質 neomycin, kanamycin の基本骨格 2-deoxystreptamine を合成する。薬剤の発生物質合成に重要な役割を担うことが期待できる。	未定
T4 phage gp5Ser351L		1WTH	Released	2005-03-08	(1)本蛋白質は T4 ファージ尾部の校正蛋白質であってリゾチーム活性を有している。(2)プロセッシングに関わるセリン特異的な大腸菌酵素を同定する手がかりができた。(3)C末端ドメインをナノチューブとして改変・利用する可能性がある。(4)C末端に新規のヘリックスが存在する。	未定
ゲラニルゲラニルグリセリルピロリン酸合成酵素		2PBS	on hold		エーテル合成を触媒する化学反応への利用可能性	現時点では具体化していない。
古細菌祖先型ヌクレオチジルトランスフェラー		2PBV	on hold		全く新規な系統樹をもとに設計したタンパク質。古細菌の祖先が持っていたタンパクの最初の例。100 ても変	この手法で工業利用酵素の耐熱化共同研究を

一ゼ					性しないことが明らかとなった。 全く新規な系統樹をもとに設計したタンパク質。真正細菌の祖先が持っていたタンパクの2番目の例。90%でも変性しないことが明らかとなった。	4社と開始している。 この手法で工業利用酵素の耐熱化共同研究を4社と開始している。
真正細菌祖先型ヌクレオチジルトランスフェラーゼ	2PBU	on hold				

2. 主要な論文リスト

1. Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth S, Hofer T, Hacker T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Saupe KW, Weindruch RH, Leeuwenburgh C and Prolla TA.
Mitochondrial DNA mutations, oxidative stress and apoptosis in mammalian aging.
Science 309, 481-484 (2005).
2. Ohto U, Fukase K, Miyake K, and Satow Y.
Crystal Structures of Human MD-2 and Its Complex with Anti-endotoxin Lipid IVA.
Science, in press. (2007) PDB ID: 2E56, 2E59.
3. Funato Y, Michiue T, Asashima M, Miki H.
The thioredoxin-related redox-regulating protein nucleoredoxin inhibits Wnt-beta-catenin signalling through dishevelled.
Nat. Cell Biol. 8, 501-508 (2006)
4. Hishida T, Han YW, Shibata T, Kubota Y, Ishino Y, Iwasaki H, Shinagawa H.
Role of the *Escherichia coli* RecQ DNA helicase in SOS signaling and genome stabilization at stalled replication forks.
Genes Dev. 18, 1886-1897 (2004)
5. Miyata T, Oyama T, Mayanagi K, Ishino S, Ishino Y and Morikawa K.
The clamp loading complex for processive DNA replication.
Nat. Struct. Mol. Biol. 11, 632-636 (2004)
6. Inoue T, Irikura D, Okazaki N, Kinugasa S, Matsumura H, Uodome N, Yamamoto M, Kumasaka T, Miyano M, Kai Y, Urade Y.
Mechanism of metal activation of human hematopoietic prostaglandin D synthase.
Nat. Struct. Biol. 10, 291-296 (2003)

7. Kostychenko VA, Leiman PG, Chipman PR, Kanamaru S, van Raaij MJ, Arisaka F, Mesyanzhinov VV, Rossmann MG. Three-dimensional structure of bacteriophage T4 baseplate. *Nat. Struct. Biol.* 10, 688-693 (2003)
8. Okabe M, Tomita K, Ishitani R, Ishii R, Takeuchi N, Arisaka F, Nureki O and Yokoyama S. Divergent evolutions of trinucleotide polymerization revealed by an archaeal CCA-adding enzyme structure. *EMBO J.* 22, 5918-5927 (2003)
9. Kuribayashi F, Nunoi H, Wakamatsu K, Tsunawaki S, Sato K, Ito T, and Sumimoto H. The adaptor protein p40^{phox} as a positive regulator of the superoxide-producing phagocyte oxidase. *EMBO J.* 21, 6312-6320 (2002)
10. Miyata T, Suzuki H, Oyama T, Mayanagi K, Ishino Y, and Morikawa K. Open clamp structure in the clamp-loading complex visualized by electron microscopic image analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 13795-13800 (2005)
11. Iwata M, Imamura H, Stambouli E, Ikeda C, Tamakoshi M, Nagata K, Makyio H, Hankamer B, Barber J, Yoshida M, Yokoyama K and Iwata S. Crystal structure of a central stalk subunit C and reversible association/dissociation of V-ATPase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101, 59-64 (2004)
12. Okamoto K, Matsumoto K, Hille R, Eger BT, Pai EF, Nishino T. The crystal structure of xanthine oxidoreductase during catalysis: implications for reaction mechanism and enzyme inhibition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 101,7931-7936 (2004) PDB ID: 1V97
13. Sawasaki T, Ogasawara T, Morishita R, Endo Y. A cell-free protein synthesis system for high-throughput proteomics.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99, 14652-14657 (2002)
14. Rossmann MG, Mesyanzhinov VV, Arisaka F and Leiman PG.
Phage T4 injection complex and baseplate structures.
Curr. Opin. Struct. Biol. 14, 171-180 (2004)
15. Adachi-Yamada T, Harumoto T, Sakurai K, Ueda R, Saigo K, O'Connor MB, Nakato H.
Wing-to-Leg homeosis by spineless causes apoptosis regulated by Fish-lips, a novel leucine-rich repeat transmembrane protein.
Mol. Cell. Biol. 25, 3140-3150 (2005)
16. Miyazono K, Watanabe M, Kosinski J, Ishikawa K, Kamo M, Sawasaki T, Nagata K, Bujnicki JM, Endo Y, Tanokura M, Kobayashi I.
Novel protein fold discovered in the PabI family of restriction enzymes.
Nucleic Acids Res. 35, 1908-1918 (2007) PDB ID:2DVY
17. Horton P, Park K-J, Obayashi T, Fujita N, Harada H, Adams-Collier CJ and Nakai K.
WoLF PSORT: protein localization predictor.
Nucleic Acids Res. in press. (2007)
18. Nakao M, Barrero RA, Mukai Y, Motono C, Suwa M, and Nakai K.
Large-scale analysis of human alternative protein isoforms: pattern classification and correlation with subcellular localization signals.
Nucleic Acids Res. 33, 2355-2363 (2005)
19. Ishikawa K, Watanabe M, Kuroita T, Uchiyama I, Bujnicki JM, Kosinski J, Gajda MJ, Kawakami B, Tanokura M and Kobayashi I.
Discovery of a novel restriction endonuclease through genome comparison and wheat-germ-based cell-free translation assay: PabI (5GTA/C) from a hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus abyssi*.
Nucleic Acids Res. 33, e112 (2005).

20. Ui-Tei K, Naito Y, Takahashi F, Haraguchi T, Ohki-Hamazaki H, Juni A, Ueda R, Saigo K. Guidelines for the selection of highly effective siRNA sequences for mammalian and chick RNA interference. *Nucleic Acids Res.* 32, 936-948 (2004)
21. Naito Y, Yamada T, Ui-Tei K, Morishita S, Saigo K. siDirect: highly effective, target-specific siRNA design software for mammalian RNA interference. *Nucleic Acids Res.* 32, W124-W129 (2004)
22. Roberts RJ, Belfort M, Bestor T, Bhagwat AS, Bickle TA, Bitinaite J, Blumenthal RM, Degtyarev SKh, Dryden DT, Dybvig K, Firman K, Gromova ES, Gumpfort RL, Halford SE, Hattman S, Heitman J, Hornby DP, Janulaitis A, Jeltsch A, Josephsen J, Kiss A, Klaenhammer TR, Kobayashi I, Kong H, Kruger DH, Lacks S, Marinus MG, Miyahara M, Morgan RD, Murray NE, Nagaraja V, Piekarowicz A, Pingoud A, Raleigh E, Rao DN, Reich N, Repin VE, Selker EU, Shaw PC, Stein DC, Stoddard BL, Szybalski W, Trautner TA, Van Etten JL, Vitor JM, Wilson GG, Xu SY. A nomenclature for restriction enzymes, DNA methyltransferases, homing endonucleases and their genes. *Nucleic Acids Res.* 31, 1805-1812 (2003)
23. Takahashi M, Takahashi F, Ui-Tei K, Kojima T, Saigo K. Requirements of genetic interactions between *Sre42A*, *armadillo* and *shotgun*, a gene encoding E-cadherin, for normal development in *Drosophila*. *Development* 132, 2547-2559 (2005)
24. Hosono C, Takaira K, Matsuda R, and Saigo K. Functional subdivision of trunk visceral mesoderm parasegments in *Drosophila* is required for gut and trachea development. *Development* 130, 439-449 (2003)
25. Kato Y, Miyakawa T, Kurita J and Tanokura M. Complex structure of FBP11 WW1 and a PL ligand reveals the mechanism of proline-rich ligand recognition by group-II/III WW domains.

- J. Biol. Chem.* 281, 40321-40329 (2006)
26. Lee WC, Ohshiro T, Matsubara T, Izumi Y and Tanokura M.
Crystal structure and desulfurization mechanism of 2'-hydroxybiphenyl-2-sulfinic acid desulfinase.
J. Biol. Chem. 281, 32534-32539 (2006) PDB ID:2DE2, 2DE3, 2DE4
27. Ito K, Nakanishi M, Lee WC, Sasaki H, Zenno S, Saigo K, Kitade Y and Tanokura M.
Three-dimensional structure of AzoR (azoreductase) from *Escherichia coli*.
J. Biol. Chem. 281, 20567-20576 (2006) PDB ID:2D5I, 1V4C
28. Tanio M, Kondo S, Sugio S and Kohno T.
Trivalent recognition unit of innate immunity system: crystal structure of trimeric human M-ficolin fibrinogen-like domain.
J. Biol. Chem. 282, 3889-3895 (2007) PDB ID: 2D39
29. Abe Y, Jo T, Matsuda Y, Matsunaga C, Katayama T and Ueda T.
Structure and function of DnaA N-terminal domains: Specific sites and mechanisms in inter-DnaA interaction and in DnaB helicase loading on oriC.
J. Biol. Chem. in press. (2007) PDB ID: 2E0G
30. Yonezawa N, Kudo K, Terauchi H, Kanai S, Yoda N, Tanokura M, Ito K, Miura K, Katsumata T and Nakano M.
Recombinant porcine zona pellucida glycoproteins expressed in Sf9 cells bind to bovine sperm but not to porcine sperm.
J. Biol. Chem. 280, 20189-20196 (2005)