

## 5 - 3 転写・翻訳

グループ名 個別的解析プログラム名(転写・翻訳)  
中核機関名 北海道大学大学院先端生命科学研究所  
代表者名 田中 勲

### 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

蛋白質構造解析の主要なすべてのステップにおいて独自の技術開発を行い、一部は実用化されプロジェクト内外での蛋白質構造機能解析に役立ってきた。プロジェクト開始時以来の PDB 登録総数は、当初の計画数の2倍を超え、205個となった。以下、構造解析を行った蛋白質から、生物学的に特に重要な解析成果と産業応用につながる可能性のある解析成果に絞って記述する。

#### 1. 遺伝暗号の翻訳に関わる因子の特筆すべき構造解析成果

##### tRNA 依存性アミド基転移酵素 GatCAB, GatDE の構造解析 遺伝暗号誕生の分子基盤

*Science*, 312, 1950-1954 (2006), *Science*, 312, 1954-1958 (2006)

遺伝暗号を正確に翻訳するには、その前提条件として20種のアミノ酸が対応する tRNA に正確に付加される必要があり、一般にはアミノ酸ごとに存在するアミノアシル tRNA 合成酵素(aaRS)が、アミノ酸とtRNA を厳密に認識することによって、これを保証している。しかし、真核生物以外の生物は Gln-tRNA<sup>Gln</sup> を合成する GlnRS を持たない。これらの生物では、識別の緩い GluRS によってグルタミン酸と tRNA<sup>Gln</sup> から誤った対合産物 Glu-tRNA<sup>Gln</sup> がつくられ、次いで tRNA 依存性アミド基転移酵素(真正細菌では GatCAB 複合体, 古細菌では GatDE 複合体)が tRNA に結合した Glu を Gln に変換する。その際, GatA(真正細菌), GatD(古細菌)サブユニットは、グルタミナーゼとして働いて L-グルタミンあるいは L-アスパラギンからアンモニアを生成し、一方で GatB(真正細菌), GatE(古細菌)サブユニットは Glu-tRNA<sup>Gln</sup> を ATP を用いてリン酸化して活性中間体  $\gamma$ -phosphoryl-Glu-tRNA<sup>Gln</sup> を生成する。最後に、はじめの反応で生成したアンモニアが活性中間体を求核攻撃することで生成物 Gln-tRNA<sup>Gln</sup> ができる。北大グループと東工大グループは、それぞれ、黄色ブドウ球菌由来 GatCAB と ATP アナログとの複合体, 古細菌 *Methanothermobacter* 由来の GatDE と tRNA<sup>Gln</sup> との複合体の結晶構造解析を行い、*Science* 誌に同時掲載した。本酵素は、遺伝暗号誕生の過程を今に残すものと考えられており、グルタミナーゼ活性サブユニットの起源を異にする2種の酵素の構造解明は学術的に極めて重要である。この研究により、tRNA の識別機構、グルタミナーゼ活性部位とキナーゼ部位とをつなぐ分子内アンモニアチャネルによるアンモニアの運搬、グルタミナーゼ、キナーゼ、アミドトランスフェラーゼ活性が協同して Gln-tRNA<sup>Gln</sup> を作り出すメカニズムが明らかになった。本酵素は、真核生物が必要としないことから、構造を元にその機能を阻害する薬剤を設計することにより、病原性細菌に対する薬剤の開発も期待されている。

##### CCA 付加酵素と tRNA プライマー複合体の構造解析 鋳型非依存性 RNA 合成機構

*Nature*, 443, 956-960 (2006), *Nature* 430, 700-704, (2004)

tRNA の 3'末端の CCA 配列は、全生物に共通して、蛋白質合成過程におけるアミノ酸との結合やリボソームとの結合に必須である。この CCA 配列は CCA 付加酵素と呼ばれる鋳型非依存性 RNA ポリメラーゼによって、CTP および ATP を基質として合成される。2004 年の論文では、CCA 付加酵素と tRNA の複合体の結晶構造を 2.8 Å 分解能で決定し、本酵素が鋳型 DNA の代わりに酵素のアミノ酸残基で構成された「タンパク質性の鋳型」によって、基質となる CTP や ATP を固定し、鋳型なしでも CCA 配列を結合させる分子基盤を明らかにした。2006 年の論文では、さらに CCA 付加酵素とプライマーとなる各反応段階のミニヘリックス tRNA (CCA, CA, A が欠けているもの)と NTP との複合体 [mini-D (D; ディスクリミネーター), mini-DC, mini-DC+CTP, mini-DCC, mini-DCC+ATP, mini-DCCA の計 6 つのステージ] の結晶構造を解明し、CCA 付加反応のダイナミクスを解明した。その結果、第一段階、第二段階で CTP が付加する際には、ポリメラーゼドメインが構造変化して閉じた構造をとり、プライマー末端もフリップして CTP を受け取ることで、酵素・プライマー・CTP のダイナミクスで NTP の基質特異性が決定されるのに対し、mini-DCC ステージ以降はポリメラーゼドメインが一貫して閉じた構造をとり、ポケットの静的な構造で ATP を認識していること、CCA の付加が終わると C 末端のドメインが tRNA に特徴的な T $\Psi$ C ループを認識することで、tRNA が離脱することが明らかとなった。

### RNA のチオ化修飾の原子メカニズム 連続スナップショット的構造解析

*Nature*, 442, 419-424 (2006)

tRNA<sup>Glu</sup> や tRNA<sup>Lys</sup>, tRNA<sup>Gln</sup> のアンチコドン 1 字目には 2-チオウリジン ( $s^2U34$ ) が存在している。このチオ基は正確なコドンの認識および特異的なアミノアシル tRNA 合成酵素による認識に必須である。本研究では tRNA にチオ基を導入する MnmA と tRNA<sup>Glu</sup> の 3 種類の複合体の結晶構造を解析することによって、この 3 つの構造が、tRNA の初期結合段階、前反応段階、アデニル化中間状態であることを明らかにし、チオ化反応のスナップショットを撮ることに成功した。これらの 3 段階を通じて、活性部位付近の ヘリックスが構造変化して シートとループ構造になり、フリップアウトした U34 をさらに活性ポケットの奥に押し込んで、これをアデニル化中間体にする。触媒残基の 2 つのシステイン残基は前 2 段階では分子内ジスルフィド結合を形成して不活化しているが、最終段階で還元活性型となり硫黄を受け取って、これが U34 のアデニル化活性化された 2 位のカルボニル炭素を求核置換攻撃する。さらに興味深いことに、構造変化した シートとループ構造は酵素の活性部位に蓋をして一種の反応器を形成し、水分子等の侵入を妨げ、反応性の高い硫黄を正確にウリジンの定位置に結合させていることが明らかとなった。

### 翻訳開始因子 $\alpha$ /eIF2 $\beta\gamma$ 複合体の構造解析 真核生物、古細菌の翻訳開始複合体

*PNAS*, 103, 13016-13021 (2006)

$\alpha$ /eIF2 は  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  の 3 つのサブユニットからなり、真核生物、古細菌の翻訳開始反応において、リボソームへの GTP 依存的な開始 Met-tRNA<sub>i</sub> の運搬、および開始コドンの認識に伴う GTP 加水分解による Met-tRNA<sub>i</sub> の解離という 2 つの中心的な役割を担っている。今回、古細菌由来  $\alpha$ IF2 $\beta\gamma$ -GDP 複合体の構造解析を行うことに成功し、サブユニットが GTP 結合サイトの近傍に結合することを初めて明らかにした。また、サブユニット単体との構造比較から、分子の可動性が機能に深く関わっていることを見出した。本解析の結果とこれまでの知見を総合することで、翻訳開始反応において最も重要なステップである開始コドン認識から Met-tRNA<sub>i</sub> 解離に至る詳細な分子機構のモデルを提唱した。

### 古細菌リボヌクレアーゼ P 蛋白質の構造解析 最初に発見されたリボザイムの構造研究

*RNA* 10, 1423-1432 (2004), *J. Mol. Biol.* 357, 583-591 (2006) など

リボヌクレアーゼ P (RNase P) は、前駆体 tRNA の 5' leader 配列のプロセシングに関与するリボザイムである。歴史上、最初に発見されたリボザイムであり、全生物種に存在しているが、その構成成分や酵素化学的性質は生物種によって異なっている。最近、真正細菌の RNase P RNA の構造が *Nature* に発表されたが、真正細菌の RNase P が、約 400 ヌクレオチドからなる 1 分子の RNA と 1 分子のタンパク質 (約 10 kDa) から構成されるのに対し、真核生物や古細菌の RNase P は 1 分子の RNA と複数のタンパク質サブユニットから構成されている。本研究では、超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* RNase P が 5 種のタンパク質と RNA とから構成されていることを再構成実験で証明し、さらにすべての蛋白質成分の構造を  $\sim 2.0$  Å の分解能で決定した。

### 古細菌由来翻訳調節因子複合体 RelB/RelE の構造解析 リボソーム上の mRNA を切断する酵素

*Nat. Struct. Mol. Biol.*, 12, 327-331 (2005)

大腸菌に代表される真正細菌は翻訳調節因子 (RelB と RelE) を持っている。RelE は翻訳過程の mRNA を特異的に切断するリボヌクレアーゼで、通常 RelB と複合体を形成して酵素活性が阻害されている。しかし、アミノ酸欠乏条件下では細胞内プロテアーゼにより RelB が分解され、その結果 RelE がタンパク質合成を阻害する。本研究では、超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* の RelB/RelE 相同タンパク質複合体の構造を 2.3 Å の分解能で決定した。RelB は伸びた構造を持つのに対して、RelE は球状タンパク質で、その形と大きさから、RelE が tRNA の分子擬態としてリボソームに結合することが示唆された。

### リジン合成酵素の構造解析 複雑な RNA 修飾機構の最初の解明

*PNAS*, 102, 7487-7492 (2005)

リジン合成酵素 (TilS) は、tRNA<sup>Ile</sup> のアンチコドン 1 字目の C34 にリジンを結合させてリジンにすることで、tRNA のコドン特異性とアミノ酸特異性を同時に Met から Ile に変換する重要な酵素である。今回 TilS の結晶構造を 2.4 Å 分解能で決定し、それに基づく変異体解析を行うことで、TilS が C34 をアデニル化し、アミノ基が活性化されたリジンに求核置換攻撃させることでリジンが生成することを初めて明らかにした。本酵素は細菌に

特異的なため、本構造は有効な抗生物質の設計・開発に応用できる。

#### 哺乳動物ミトコンドリア Ser-tRNA 合成酵素の構造解析及び tRNA<sup>Ser</sup> 識別の分子機構

*EMBO J.*, 24, 3369-3379 (2005)

SerRS は tRNA<sup>Ser</sup> の特徴である長く伸びたバリアブルアームを認識していることが知られているが、動物ミトコンドリアの二つの tRNA<sup>Ser</sup> (mt tRNA<sup>Ser</sup>) にはこのバリアブルアームが存在しない。詳細な認識分子メカニズムを解明するために、我々は初めてとなる哺乳動物 (ウシ) ミトコンドリア SerRS の X 線結晶構造を 1.65 Å の高分解能で決定することに成功した。これによって、mt SerRS には両末端にそれぞれ延長ペプチドが付加されており、これらが特異的に mt tRNA<sup>Ser</sup> を認識していることを発見した。ミトコンドリアの翻訳系では、tRNA<sup>Ser</sup> が進化の段階で消失したバリアブルアームを補うために、mt SerRS は両末端に延長ペプチドを獲得し、新たな tRNA<sup>Ser</sup> 上の識別部位をみつけ出したと考えられる。

#### メチオニル tRNA 合成酵素と tRNA<sup>Met</sup> の複合体の構造解析 四半世紀の謎の解明

*Nat. Struct. Mol. Biol.*, 12, 931-932 (2005)

メチオニル tRNA 合成酵素 (MetRS) は、結晶構造が最初に解明されたアミノアシル tRNA 合成酵素であり、膨大な生化学的データも集積していながら、四半世紀に渡って結晶構造が決定されなかった。今回 MetRS と tRNA<sup>Met</sup> との複合体の結晶構造を 2.4 Å 分解能で決定した結果、tRNA<sup>Met</sup> のアンチコドンループは大きく歪み、C34、A35、A38 からなる 3塩基スタック構造を取り、MetRS の Trp 残基と Arg 残基が核酸の 2重らせん構造を模倣してアンチコドン認識していることが明らかになった。

#### トランス校正酵素 AlaX と Ser 複合体の構造解析 アラニンを類似アミノ酸から識別する機構

*PNAS*, 102, 11669-11674 (2005)

遺伝暗号の翻訳はコドンとアミノ酸を直接的に結び付けているアダプター分子、アミノアシル tRNA (aa-tRNA) によって媒介されるため、aa-tRNA 合成の精度は正確なタンパク質合成にとって非常に重要である。しかし、一部のアミノ酸同士は側鎖のサイズや性質が非常に似通っているため、間違っただ組み合わせの aa-tRNA が合成されることがある。AlaX は tRNA(Ala) に対してセリン、あるいはグリシンが間違っただ付加された Ser-tRNA(Ala) や Gly-tRNA(Ala) に対して校正活性を示す酵素であり、校正サイトにおいてセリンとグリシンをアラニンから識別して、これを加水分解する。今回得られた AlaX-セリン複合体構造より、20年以上謎であったこれらのアミノ酸の識別機構が解明された。

#### リボソーム再生因子とリボソーム複合体の立体構造 翻訳装置のリサイクル機構

*EMBO J.*, 24, 251-260 (2005)

リボソーム再生因子 RRF は真性細菌の生存に必須である翻訳終結後リボソーム複合体の再生を司り、細菌感染症の創薬ターゲットとして有望である。本研究では RRF リボソーム結合ドメイン/リボソーム 50S サブユニット複合体の X 線結晶構造を解析し、両者の相互作用部位を初めて原子レベルで明らかにした。また、これまで詳細が不明であったリボソーム再生機構において決定的な役割を果たすと考えられる 30S/50S サブユニット界面の構造変化を見出した。これらの結果に基づいて設計した分子のリボソーム再生阻害能を現在検討中であり、新規抗菌剤創出への展開が期待される。

#### 血管新生抑制活性に働くヒト由来トリプトファン tRNA 合成酵素の構造解析 がん治療の可能性

*Nat. Struct. Mol. Biol.*, 11, 149-156 (2004)

ヒト由来トリプトファン tRNA 合成酵素 (hTrpRS) は、スプライスバリエーション型 (mini TrpRS) が細胞外へ分泌され、血管内皮細胞のアポトーシスを促し、血管新生の抑制に働く。今回 mini TrpRS の結晶構造を 2.3 Å 分解能で決定し、mini TrpRS の tRNA を認識するドメインに挿入された 8 ペプチドが血管内皮細胞のアポトーシスに必須であることを解明した。本構造に基づき、血管新生によって引き起こされる失明や癌細胞の増殖を抑制する薬剤の設計が可能になると考えられる。

#### 真核生物ペプチド鎖解離因子 eRF3c の構造解析 翻訳終結制御を担うハブ酵素

*Mol. Cell*, 14, 233-245 (2004)

真核生物ペプチド鎖解離因子 eRF3c は、tRNA 擬態性タンパク質であるペプチド鎖解離因子 eRF1 と結合することで協調的に翻訳終結反応を遂行する GTP 結合性タンパク質である。また、eRF3 は翻訳終結マシナリーと

様々な高次生命機能に働く因子群とを結びつけるハブの中心でもある。その機能構造の解明は、疾患治療のための創薬ターゲット検索という観点からも有望視される。本研究では、eRF3 の3つ異なる機能モードの構造を決定し、高次生命機能において様々な因子により翻訳終結効率を制御すると考えられるスイッチ構造を明らかにした。

#### 古細菌リボソーム GTPase センター (GAC) 構成タンパク質複合体の構造解析 翻訳装置の駆動部 論文準備中

リボソーム GAC は翻訳反応にエネルギーを提供する機能中心で生体内翻訳装置の駆動部となる重要な部位であるが構造的に柔軟で、リボソーム粒子の結晶構造ではその機能構造は明確にされていない。本研究では機能面で真核型である古細菌の GAC 構成タンパク質 Ph-P0 と Ph-L12 による複合体の結晶化と構造解析に成功し、真核型機能構造の特徴を明らかにした。

#### 2. 創薬など産業利用につながる可能性のある構造解析 ディールス・アルダー反応触媒酵素の構造解析 ディールス・アルダー反応触媒酵素のはじめての解析

*Nature* 422, 185-189 (2003)

ディールス・アルダー反応は、有機合成化学上極めて重要な反応の一つであり、制癌剤や抗生物質、免疫抑制剤など、芳香族化合物の合成現場で盛んに使用されている。この反応を触媒する酵素の存在は、数十年前より予測されていたが、触媒反応を説明することは容易ではなかったため、酵素の存在を証明した例は無かった。我々はマクロフォミン酸合成酵素の構造解析を行い、ディールス・アルダー反応が組み込まれた酵素反応を具体的に説明した。

#### 多剤排出ポンプ調節因子の構造解析と機能同定 構造解析から機能解析へ

*J. Biol. Chem.*, 280, 38711-38719 (2005)

*C. glutamicum* 由来 CGL2612 蛋白質は、立体構造解析の結果 *S. aureus* (ブドウ球菌) 由来多剤耐性調節転写因子 QacR と非常に類似した立体構造を持つ事が明らかとなった新規因子である (一次構造の相同性は 7%)。SELEX 法による結合 DNA 配列同定実験を行ったところ、本タンパク質は *cgl2611* 遺伝子のプロモーター領域に結合する事が明らかとなった。*cgl2611* は膜蛋白質をコードしており、多剤排出ポンプである *S. aureus* 由来 QacA (QacR によって発現が制御) とも一次構造上高い相同性を示す (29%)。CGL2612 欠損株では CGL2611 の発現量増加がみられ、それに伴って薬剤への耐性が増大した。これらの結果より、CGL2612 が *C. glutamicum* の持つ多剤耐性オペロンのレギュレーターである事が明らかとなった。

#### 肝臓特異的転写因子 HNF-6 $\alpha$ と認識 DNA 複合体の構造解析

新規ホメオドメイン蛋白質の DNA 認識機構の解明 *Structure* 15, 75-83 (2007)

HNF-6 蛋白質は肝臓特異的転写因子群のひとつであり、肝細胞の発生や分化、増殖などの調節のほかに、代謝に関連する多様な遺伝子の転写調節機能を有している。この蛋白質は CUT ドメインとホメオドメインという二つの DNA 結合ドメインを持ち、ターゲットとなる DNA の塩基配列によって転写調節機構を変化させている。ターゲット遺伝子のひとつであるトランスサイレチンのプロモーター領域との複合体の構造解析により、二つのドメインによる協調的な DNA 認識機構を解明し、転写調節メカニズムの多様性を説明した。

#### 黄色ブドウ球菌の病原性発現因子の構造解析 病原微生物の構造生物学

*J. Biol. Chem.* 282, 5770-5780 (2007)

黄色ブドウ球菌バンコマイシン耐性株の病原性発現因子群を対象とした構造生物学研究を展開した。研究対象としたのは、薬剤耐性関連蛋白質、細胞接着因子蛋白質、細胞外酵素、莢膜合成関連蛋白質など 160 種類の蛋白質で、そのうち 23 種類の蛋白質については結晶化に成功した。これまでに、薬剤耐性関連蛋白質 Drp35、Fe 貯蔵蛋白質 Dps、細胞分裂関連蛋白質 SAV0287 の立体構造解析が完了しているほか、細胞接着因子 EhbA、莢膜合成蛋白質 CapF についてはデータ収集が完了し、現在構造解析中である。

#### カイコ由来新規転写制御因子 FMBP-1 の立体構造解析 - 新規 DNA 認識ドメインの構造 -

*Biochemistry*, 46, 1703-1713 (2007)

カイコのシルクの主成分であるフィブロイン大量発現制御のメカニズムは未解明な点が多く残されており、家畜化されたカイコを蛋白質工場として利用する医薬品生産等への応用を考える上でも重要である。このフィブロイ

ン遺伝子の転写を制御する因子として発見された FMBP-1 の DNA 結合ドメイン(STPR ドメイン)の NMR 法による立体構造解析に成功した。フレキシブルな領域を多く含むこのドメインは DNA 結合により大きな 2 次構造変化を伴い、特異的な認識配列と高いアフィニティーを示す新規構造を有することが明らかになった。さらに最近の研究で STPR ドメインを含む機能未知相同蛋白質をヒトも有し、マイクロアレイ解析から疾病との関係も示唆されているため、今後の研究の進展が期待される。

**ヒト MTH1 と基質複合体の構造解析 突然変異と異常 RNA 合成を防ぐ酵素 論文準備中**

ヒト MTH1 は DNA や RNA 合成の基質となる様々な変異原酸化プリンヌクレオシド 3 リン酸を分解することによって突然変異と異常 RNA 合成を防ぐ酵素である。今回、化学構造の異なる 2 つの基質と MTH1 の複合体の結晶構造を 2.3 Å 分解能で決定したところ、活性部位にある隣り合う 2 つの Asp 残基のプロトン化部位を交換することによって異なる基質を認識するという極めてユニークな方法で幅広い基質特異性が発現していることが分かった。また MTH1 は脳腫瘍などのがん細胞に高発現し、その欠損細胞は酸化ストレスで細胞死を起こすため、MTH1 の阻害剤は新規のがん治療薬になる可能性がある。現在、その阻害剤の設計を行っている。

**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	205	38
(2)構造解析を終了したが PDB 未登録のタンパク質の数	18	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	0	

**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	563	135

**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) 特許出願数(海外)	28 件 5 件	5 件 0 件
(2)特許登録数(国内) 特許登録数(海外)	4 件 1 件	2 件 1 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	平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月： 19 件 ナリットルオーダーの微量蛋白質試料で結晶化条件のスクリーニングを実施出来る結晶化チップの開発。結晶のフリーマウント法の製品化を目指した開発。放線菌を宿主としたバイオプロセスへの応用研究。放線菌を宿主とした酵素生産。バクテリアの遺伝子発現解析。新規転写合成 siRNA の開発など	
(4)成果の産業移転に関する具体的な例	結晶性直接評価が可能な結晶化プレートの製品化。放線菌を宿主とした微生物変換。放線菌を宿主とした酵素生産。高感度質量分析用メタルスプレーヤ S。プロテオミクス研究用データベース Human-RERFECT など。	

(5)出願した特許の具体的な例	<p>ナノリットルオーダーの微量蛋白質溶液を用いて結晶化を実施するための結晶化チップの構造、およびそれを用いて結晶化する方法。蛋白質結晶化剤をゲルポリマーに保持させ、蛋白質溶液を接触させ結晶化させる方法。結晶を凍結状態で溶媒完全フリーにマウントし、長波長X線を利用した回折強度測定の高精度化を容易に実現する方法。放線菌の一種であるロドコッカス属を用いて既存の発現系とは異なる温度、環境で使用できる発現系。蛋白質多量体化を促進するペプチドとそれを利用した促進方法。RNA中のイノシン化部位を特定する方法。往復循環クロマトグラフィー。高い耐熱性を有する糖ヌクレオチド合成酵素および糖リン酸転移酵素。インフルエンザウィルスRNAポリメラーゼの大量精製法。ヒト由来上皮成長因子とその受容体の結晶構造解析に基づいた、がん化を抑制する新規薬剤・抗体の設計。糖ヌクレオチド合成酵素変異体。アセチル化アミノ糖及びアセチル化アミノ糖ヌクレオチド合成活性を有する耐熱性酵素。モノクローナル抗体の作成方法。組み換え蛋白質の製造方法など。</p>
-----------------	---

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

**研究設備：**

「X線解析・大型三次元構造可視化装置」：高輝度かつCu/Cr特性線の2種類の波長を供給できる「X線解析装置」と、高度な計算能力を有する「大型表示装置」及び「タンパク質構造・機能解析用計算機システム」からなる。本システムは、タンパク質構造を非標識のまま実験室で迅速に解析することを可能とし、かつ構造解析したタンパク質の機能をその構造の立体視を複数人で行いながら討論し解明するために用いられる。

「タンパク質精製システム」：構造解析用組換え蛋白質の精製に用いる「大型冷却遠心機」と、組換え蛋白質の精製を自動的に連続して実施できる「液体クロマトグラフィー装置」から構成される。本システムを用いて構築されたハイスループット蛋白質構造解析パイプラインにより、年間延べ500種類の組換え蛋白質の生産を可能にした。また、このパイプラインはサブ拠点に対する構造解析サービスにも供され、本グループ全体の構造解析の効率化に貢献した。

**育成された人材：**

計19名の博士研究員(ポスドク)を雇用了。これらのポスドクの現在の所属は以下のとおりである。大学や国公立の研究所の職員として採用されたもの7名(国立遺伝学研究所構造遺伝学研究センター助教、北海道大学大学院先端生命科学研究院助教、産業技術総合研究所研究員(2名)、別府大学食物栄養科学部講師、大阪医科大学基礎医学II講座助教、九州大学大学院農学研究院助教)

民間企業に採用されたもの2名

博士研究員を継続しているもの10名(九州大学大学院農学研究院、東京大学大学院新領域創成科学研究科、北海道大学大学院先端生命科学研究院、高エネルギー加速器研究機構物質構造科学研究所、北陸先端科学技術大学院大学マテリアルサイエンス研究科、Ecole Polytechnique(仏)など)

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

**蛋白質調製技術：**組換えタンパク質生産支援技術の開発として、放線菌を宿主とした発現系の開発を行った。誘導型、構成型発現ベクターに加え共発現ベクターの開発を進め、大腸菌同様汎用型かつ多様な発現系の構築が可能になった。更に、プラスミドの細胞内安定性を考慮しなくて良いゲノム挿入型発現系の開発にも成功した。宿主細胞の機能改変としては、トランスポゾンベクターの開発により、宿主細胞の機能改変・解析が容易になった。またリゾチーム感受性株の利用技術の開発とプロテアーゼ欠損株の構築により、組換えタンパク質精製・回収効率が著しく高くなった。

**蛋白質可溶性技術：**これまでは立体構造を有していないと考えられてきた封入体中でも、蛋白質は天然と類似した2次構造を維持していることを見出した。この知見に基づき、封入体となった蛋白質を、2次構造を維持したまま可溶性化し、天然構造へと再生する手法を構築した。また、固定化したシャペロニン、酸化還元酵素の利用が可溶性化に有効であることを見出した。

**蛋白質結晶化技術：**結晶の回折能を迅速に評価できる結晶化装置(直接評価用結晶化プレート)を開発し、

製品化を行った。次世代の結晶化デバイスである結晶化マイクロアレイの開発を行った。現在、製品化のための最終テスト段階にある。また初期結晶化条件をさらに最適化し、良質かつ大型の結晶を迅速に得るために、蛋白質濃度と結晶化剤濃度を主要なパラメータとし、シーディング法と組み合わせた条件展開法を開発した。

**結晶自動観察技術:** ナノ分注機利用結晶化装置からの大量の結晶化プレートを観察し、結晶化条件を検討するため、恒温で保管した 400 枚の結晶化プレートを定期的に自動顕微鏡観察する装置を開発した。観察部のみの製品化も実施した。

**結晶構造解析技術:** クロムの特性X線(2.29 Å)を利用し、S-SAD 法で蛋白質構造解析を行うための新規結晶マウント法を開発した。大量生産可能な製品化を目指した開発を継続している。構造解析自動精密化プログラムについては、既に実用化の段階に入っており、当拠点グループ内だけでなく、創薬コンソーシアムやタンパク3000プロジェクトの他の拠点ユーザーにも利用され、プロジェクトの推進に貢献した。

**蛋白質機能解析技術:** DNA 結合転写因子の支配下遺伝子群の網羅的同定のために、ゲノムDNA断片混合物から純化転写因子結合断片を単離し、DNA チップを利用して迅速に同定する genomic SELEX 法を開発した。プロモーターチップの作製と、それを利用した転写因子認識結合プロモーターの迅速同定法を開発した。

## 7. タンパク質の機能解析に関する成果の概要について

ミトコンドリアセリル tRNA 合成酵素 SerRS の tRNA 識別機構の解明。古細菌アミノアシル tRNA 合成酵素 ArgRS の tRNA 識別機構の解明。CCA 付加酵素の RNA 重合メカニズムの解明。リジン合成酵素のコードンおよびアミノ酸特異性の解明。古細菌の tRNA 修飾酵素 RNaseP が5種の蛋白質と RNA との複合体で機能することを証明し再構成実験に成功。古細菌の tRNA 修飾酵素 RNaseP RNA のリボザイム活性に関与するヌクレオチドの同定。古細菌の tRNA 修飾酵素 RNaseP タンパク質の RNA シャペロンとしての役割。メチオニル tRNA 合成酵素 MetRS の tRNA 認識メカニズムの解明。動物細胞リボソーム蛋白質複合体 P0-P1-P2 および古細菌の相同タンパク質複合体が翻訳反応の駆動部(GTPase センター)として翻訳のスピードを決定していることを証明。翻訳開始因子 aIF2B のリン酸化部位の特定。古細菌の翻訳調節因子 RelE の mRNA の切断に関与するアミノ酸残基の同定。酵母ツーハイブリッドシステムによるエキソゾーム関連蛋白質の蛋白質間相互作用の解明。mRNA 分解酵素の高次複合体形成の解明。真核生物ペプチド鎖解離因子 eRF3 の eRF1 との結合部位の解明および作用モデルの検証。真核生物ペプチド鎖解離因子 eRF3 の高次構造から予想された機能制御部位が、タンパク質分解制御系との共役を実現し、翻訳終結制御を制御することを解明。リボソームペプチド転移反応中心を形成する rRNA 残基のうち翻訳終結機能に特異的に関わる残基の解明。原核生物ペプチド鎖解離因子の機能発現に関わる有力な因子、リボソーム蛋白質 L11 を同定し、その機能部位を決定。リボソーム再生因子 RRF の構造ゆらぎと機能の関係の解明。リボソーム再生反応における伸長因子 EF-G の機能ドメインが tRNA 転座反応とは独立なものであることを証明。リボソーム再生反応に特異的に関与する EF-G 機能ドメインの解明。大腸菌 RNA ポリメラーゼの第一次機能変換因子群(プロモーターを認識するシグマ因子群)全7種類について、支配下遺伝子(プロモーター)の同定と転写制御機構の解明。大腸菌転写因子群全 300 種を発現精製し、制御対象遺伝子・プロモーターの網羅的解析を実施。機能未知転写因子 100 種の支配下遺伝子群の同定に成功。機能未知転写調節因子 CGL2612 が多剤排出ポンプ CGL2611 の転写制御を行っていることを解明。酸化ストレスによる突然変異の抑制に働くヒト hMTH1 と NUDT5 が異常 mRNA 生成抑制にも働くことを解明。カイク由来新規転写制御関連蛋白質 FMBP1 の DNA 認識機構を解明。超好熱古細菌中での GalN-1-P アセチル化酵素活性の解明。糖代謝関連酵素群の至適温度、金属イオン要求性の違いの解明。新規タイプの PMI(リン酸化マンノースイソメラーゼ)酵素の発見及び機能部位の同定。非常在細菌または常在の非病原性細菌による ex vivo 細菌感染刺激で腸管の Paneth 細胞が殺菌活性を放出することを確認。

## 8. これまでの評価に対する反映状況について

平成15年度の評価委員会での意見をもとに、横浜市立大との間での「転写・翻訳」ターゲットの切り分けを明確にするために本拠点では「翻訳」に重点を置くことを決定した。平成16年度の評価委員会の指摘を受けて、それまでの数重視の方針から、より困難で重要なターゲットに焦点を絞り、また成果の産業利用を視野に入れた解析を行うべく重点化を図った。平成17年度には、「転写・翻訳」という本来の研究目標との整合性と、これまで

の知見に付加できる価値を勘案しながら短期決戦で臨むようにとの指摘をうけ、最終年度にはこれまでの研究で残されていた「翻訳」の重要なターゲットに的を絞った。その結果、項目1.に記載したような多くの重要な成果につながった。

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）

**目標に対する達成度：**本拠点の目標【転写・翻訳の過程を通して遺伝子の発現に関わるタンパク質を対象として、5年間で100個以上のタンパク質の構造機能解析を行う。これを達成するために、タンパク質の発現・精製・可溶化に関する高効率システム、微量自動結晶化システム、自動構造解析ソフトウェアシステムの開発など様々な研究支援技術の開発を行う】に対して、PDB登録数は200を超え、項目6に記載したように技術開発についても十分な成果を収めることができたと考えている。

表1 分担機関一覧

機関名	業務担当者	業務題目	年度
北海道大学大学院先端生命科学研究院	田中 勲	転写翻訳基幹装置関連蛋白質の構造解析	平成 14～18 年度
北海道大学大学院先端生命科学研究院	出村 誠	転写制御関連タンパク質の構造・機能に関する NMR 解析	平成 14～18 年度
(独)産業技術総合研究所	田村具博	遺伝子発現制御に関する研究	平成 14～18 年度
東京大学大学院新領域科学研究科	津本浩平	蛋白質合成に関わる各種プロセッシング・修飾酵素と因子の構造ゲノム科学	平成 14～18 年度
新潟大学理学部	内海利男	リボソームの構造機能解析	平成 14～18 年度
東京大学医科学研究所	伊藤耕一	翻訳終結機能研究を基軸とした、翻訳装置の普遍機能構造の解明	平成 14～18 年度
東京大学大学院工学系研究科	鈴木 勉	ミトコンドリア翻訳関連因子の構造解析	平成 14～18 年度
(独)産業技術総合研究所	河原林 裕	遺伝子情報解析に関する研究	平成 14～18 年度
国立遺伝学研究所	西川 建	コンピュータ解析によるターゲット選択	平成 15～18 年度
法政大学工学部	石浜 明	大腸菌転写因子の構造 - 機能相関の網羅的解析	平成 14～18 年度
大阪大学大学院薬学研究科	吉田卓也	クロマチン構造関連因子・核内受容体の立体構造解析	平成 14～18 年度
九州大学大学院農学研究科	木村 誠	tRNA 修飾酵素および翻訳開始因子の構造生物学的研究	平成 14～18 年度
熊本大学大学院医学薬学研究部	山縣ゆり子	mRNA の生成(転写)制御, 成熟化と輸送, 並びに遺伝情報維持に関わるタンパク質の構造生物学	平成 14～18 年度
東京工業大学大学院生命理工学研究科	濡木 理	遺伝暗号の翻訳に働くタンパク質の構造解析に関する研究	平成 16～18 年度
北海道大学大学院先端生命科学研究院	綾部時芳	病原性からみた腸内微生物と内因性抗菌ペプチドの相互作用の解明	平成 18 年度
筑波大学大学院人間総合科学研究科	太田敏子	病原性ブドウ球菌の病原性発現因子の網羅的構造・機能解析	平成 18 年度
北海道大学大学院獣医学研究科	苅和宏明	SARS-CoV, N タンパク質の相互作用分子探索	平成 18 年度
神戸大学大学院医学	春日雅人	糖代謝制御機構における KLF15 の機能の	平成 18 年度



系研究科		解析	
北海道大学大学院理学研究科	鈴木範男	恒常性維持に関わる情報伝達系蛋白質の構造と機能解析に関する研究	平成 14～15 年度
北海道大学大学院理学研究科	高橋孝行	脊椎動物の生殖器官に発現するタンパク質の構造解析	平成 14～15 年度
北海道大学大学院医学研究科	西平 順	疾患原因遺伝子としての転写因子の蛋白質構造解析	平成 14～15 年度
お茶の水女子大学理学部	今野美智子	核酸とタンパク質の結合機構に関する研究	平成 14～17 年度
国立遺伝学研究所	白木原康雄	原核真核転写因子の構造解析	平成 14～17 年度

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：**

平成15年度より、プロジェクトのホームページを立ち上げており、これは PDB のホームページに直接リンクしている。一般公開ターゲットについては、進捗状況をリアルタイムで全世界に公開してきた。シンポジウム関係では、タンパク3000プロジェクト事務局による発表会の他に、拠点独自の取り組みとして、平成18年4月に京都で開催された蛋白質科学会においてタンパク3000プロジェクト「転写・翻訳」拠点の成果(1) - (14)として、拠点全体のこれまでの成果を14件連番で発表した。

**グループ内部での連携体制確保：**

北大中核拠点に、プロジェクト内外で開発された技術を集約したハイスループット構造解析拠点を設置し、サブ拠点に対して解析支援サービスを実施してきた。主に機能解析を行っているサブ機関より、構造解析用試料の調製、蛋白質結晶化、構造解析に関する依頼を受けてきた。このシステムにより、各サブ機関における機能解析とHTパイプラインにおける構造解析が並行して進行する体制を確立した。中核拠点では、また、蛋白質解析の各工程におけるハイスループット化の技術開発を行い、技術情報は、年一回の研究交流会と、年二回発行のニュースレターによってサブ拠点に伝えてきた。北海道産総研(田村グループ)は、蛋白質の発現や可溶性について北大の技術支援サービスをサポートし、またインフォマティクスの支援として、遺伝研(西川グループ)では、転写翻訳データベース TTDB を公開し、班員のターゲットセレクションに役立てた。

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

当拠点には、「転写・翻訳」のうちでも特に翻訳の分野において国内の有力な研究者が結集しており、5年間のプロジェクト期間に、機能解析、構造解析の両面にわたり、さまざまな画期的な成果をあげることができた。その成果は Nature, Science, Mol.Cell, PNAS, NSB, EMBO J. など世界のトップクラスの雑誌に掲載され、多様な生命現象の根幹となる翻訳機構の分子レベルでの解明の基盤確立に向けて大きく貢献した。また成果の一部はアメリカの教科書(Molecular Biology of The Cell)に掲載されることが決まるなど、内外に与えたインパクトは大きい。技術開発においても、タンパク質の発現から構造解析に至るまで、幅広く開発を進めた。特に、放線菌を宿主とした蛋白質生産系、蛋白質を標識することなく天然型のままで構造を決定するためのデータ収集法、自動精密化ソフトウェアなどは、他に例をみない独創的な技術であり、関連分野に与える影響は大きい。

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
	307,000	469,600	286,761	265,000	251,000	1,579,361
設備費(千円)	128,936	178,528	45,191	25,369	41,538	419,562
人件費(千円)	20,829	86,514	111,524	89,383	73,928	382,178
運営費(千円)	138,066	178,376	107,802	129,199	114,443	667,886
管理費(千円)	19,169	26,182	22,244	21,049	21,091	109,735

## (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)
Hypothetical protein (PH1136)	1IXL	Released	03/09/09	PH1136 はアミノ酸配列相同性による分類から、機能未知で疎水性な物質との結合が示唆されるクラスタに分類される。このクラスタに属する蛋白質の初めての立体構造解析である。立体構造はホットドッグフォールドと呼ばれる構造であった。ホットドッグフォールドを有する蛋白質の多くが疎水性な物質を基質としていることから PH1136 に関しても疎水性の基質を認識する酵素であると推測された。	
Proliferation-nucleolar protein p120	1IXK	Released	03/09/09	ヒト p120 蛋白質は多くの組織における悪性腫瘍の核内増殖抗原である。本蛋白質はヒト p120 のメチル基転移ドメインと高い相同性を有する蛋白質である。この蛋白質は既存の SAM 依存型メチル基転移酵素フォールドと、新規な構造を有する2つの異なるドメインから構成されていた。	
Hypothetical protein (PH0642)	1J31	Released	04/03/09	アミノ酸配列は真正細菌、古細菌に広く保存されているがこれまでに機能が同定されていない、機能未知蛋白質である。このファミリーにおける構造としては初の解析例である。得られた構造からニトリラーゼとの構造の相同性が確認されたが、活性部位の詳細な比較によってニトリラーゼとは基質特異性が異なることが示唆された。	
マクロフォオミン酸合成酵素	1JZC	Released	03/04/01	ディールス・アルダー反応は、有機合成化学上極めて重要な反応の一つであり、制癌剤や抗生物質、免疫抑制剤など、芳香族化合物の合成現場で盛んに使用されている。この反応を触媒する酵素の存在は、数十年前より予測されていたが、触媒反応を説明することは容易ではなかったため、酵素の存在を証明した例は無かった。マクロフォオミン酸合成酵素の構造解析により、ディールス・アルダー反応が組み込まれた酵素反応が具体的に説明された。	
ACC デアミノネース変異体(K51T)	1J0C	Released	03/05/12	ACC デアミノネースは植物ホルモンエチレンの前駆体である環状アミノ酸 ACC を脱アミノ化し、 $\alpha$ -ケト酪酸とアンモニアに分解する酵素で、ペリドキサール 5'リン酸 (PLP) を補酵素とする PLP 酵素の一つである。今回、我々は ACC デアミノネースとその変異体及び ACC デアミノネース変異体-基質の複合体、さらに、ACC デアミノネースホモログタンパク質及びホモログタンパク質と基質の複合体などの立体構造を解析し、ACC デアミノネース反応機構を解明した。また本酵素は植物ホルモンの生合成を制御することができるため、構造情報は農業利用の際に有力な情報となる。	
ACC デアミノネース変異体-基質複合体 (Y295F +ACC)	1J0D	Released	03/05/12		
ACC デアミノネース変異体-基質複合体 (Y295F +ACC)	1J0E	Released	03/05/12		

ACC デアミネースホモログタンパク質	IJ0A	Released	03/05/12		イソクエン酸脱水素酵素 (IDH) は、クエン酸回路においてイソクエン酸からαケトグルタル酸へと進む酸化的脱炭酸化反応を触媒する酵素である。原核生物由来 IDH の多くは二量体型である一方で、数種の細菌からは単量体型の IDH が発見されている。今回、解析した単量体型 IDH の構造は、原核生物において、ドメイン融合による二量体から単量体への分子進化の初めての例であった。
ACC デアミネースホモログタンパク質-基質複合体	IJ0B	Released	03/05/12		
イソクエン酸脱水素酵素-NADP+複合体	IJ1W	Released	03/09/23		リボソームの大サブユニットを構成するリボソーム蛋白質 L13 はリボソームの進化の過程において機能的、構造的に重要な RNA 部分に結合することにより保存されてきた起源の古い RNA 結合蛋白質である。今回 L13 の構造を明らかにして、蛋白質の進化について、あるいは、リボソームの機能との関わりについて重要な知見を得た。
リボソーム蛋白質 L13	IJ3A	Released	03/02/04		
MarR homologue protein	IUB9	Released	04/05/04		MarR (multiple antibiotic resistance regulator) は、大腸菌、赤痢菌、サルモネラ菌、緑膿菌などにおいて抗生物質、有機溶媒、殺菌剤などに対する多剤耐性を調節している転写調節因子である。今回得られた MarR ホモログの立体構造は薬物非結合型であり、既に得られている大腸菌の薬物結合型と比べることで、このファミリーの薬物結合による構造変化に対して重要な知見を与えた。さらに MarR は、植物に感染する病原菌の病原因子の合成も制御している。
TetR-family protein	IV7B 2DH0	Released on hold	05/01/18		抗生物質耐性に関与する遺伝子群の調節を行う TetR ファミリーに属すると考えられるタンパク質であるが、構造解析の結果、院内感染の原因ともなっているバクテリアの MDR (Multi Drug Resistance) をコントロールする転写因子群の一員である QacR と高い構造相同性を示した。転写因子が多種薬剤と結合するメカニズムの解明および抗MDR剤の開発につながる。
ArsR homologue protein	IULY	Released	04/10/19		ヒ素排出系に関わるオペロンの発現調節を行う E.coli 由来 ArsR のホモログとして構造解析を行ったところ、これまでに知られている他のホモログタンパク質とは異なったトポロジーを持つ事が明らかとなった。SELEX 法による結合 DNA 配列同定実験を行い、転写因子-DNA 複合体の結晶化・構造解析を含めた更なる機能解析へと展開する。
TenA homologue protein	IUDD	Released	04/06/01		TenA は枯草菌の細胞外分泌タンパク質の発現量を大幅に上昇させるアクティベーターである。TenA による転写活性化メカニズムの解明のための解析であるが、興味深いことに配列相同性のないH <sub>2</sub> Oと相同な構造をしていることが判明した。分子に結合している未知の分子の解析ができればこの分子の真の機能を解明できよう。

Ala-tRNA synthetase editing domain	1V70	Released	04/01/13	AlaX はセリンあるいはグリシンが誤って付加された tRNA(Ala)を特異的に認識、加水分解する酵素である。このようなアミノシル tRNA の校正機構は、たんぱく質合成の正確性を保つうえで、あらゆる生物にとって非常に重要である。今回得られた AlaX-セリン複合体構造より、20 年以上謎であったアラニンとセリン、グリシンの識別機構が解明された。
Ala-tRNA synthetase editing domain Ser-Zn <sup>2+</sup> 複合体	1WNU	Released	05/07/26	
Ala-tRNA synthetase editing domain Zn <sup>2+</sup> 複合体	1WXO	Released	05/07/26	
Sugar-binding transport	1V43	Released	04/11/16	細胞膜間において物質の能動・受動輸送を担っている ABC トランスポーターは ATP フリー、ATP 結合、ADP 結合の三種の構造変化により物質輸送を行う。今回得られた Sugar-binding transport の 2 量体はこれまで得られている ABC トランスポーターの ATPase サブユニット 2 量体構造とは異なっており、構造変化の新たな知見を与える。ABC トランスポーターは薬物排出、浸透圧調節や抗原プロセッシングにおいても深く関わることから、このタンパク質の立体構造情報から阻害化合物の設計などを通じて創薬が期待できる。
ATP synthase subunit A	1VDZ	Released	05/06/21	生物に必須の ATP 合成酵素の中でも、古細菌の酵素は既知酵素と異なる一群であり、詳細な反応機構や立体構造は未だ不明である。触媒サブユニット (subunit A) の構造解析により、既知構造にはない新規ドメインを発見した。本酵素群の分子進化解明につながる。
RtcB homologue protein	1UC2	Released	04/05/04	真正細菌、古細菌、単細胞真核生物に広く存在している翻訳後のタンパク質 self-splicing の知見を得るために、“エクスライン”タンパク質の構造を解析した。得られた構造は全く新規の fold タンパク質であった。
Xenopus MIF	1UIZ	Released	04/05/25	Xenopus 胚由来の MIF 構造解析により、生体内に炎症・免疫応答に関与するサイトカイン MIF は発生や分化などの調節にも関与していることが示唆された。MIF の, keto-enol 異性化反応の触媒活性と酸化還元酵素活性の反応部位を改変し、活性の強度や基質の特異性を変化するにより、免疫や発生、分化などに関する生体内機能を調節することができる。また、MIF に対する阻害剤を設計することによって炎症・免疫疾患の治療に役立てるなど、タンパク質立体構造に基づいた創薬技術により、医薬産業に対して大きな貢献度を有している。
PH0828	1V30	Released	04/11/09	PH0828 はバクテリア、古細菌と真核生物に幅広く保存されており、生物学的に重要な機能を持つことが予想されるファミリーに属している。解析の結果、全く新規な構造を有していることが判明したことから、このファミリーは未知の生物学的機能を持つ可能性が大きい。
5'-methylthioadenosine phosphorylase homologue (MTAP)	1V4N	Released	04/06/04	MTAP はポリアミンからアデニンを生合成する際にメチルチオアデノシンを分解してアデニンを合成する反応を触媒し、3 量体型と 6 量体型が存在している。このたびに構造解析した蛋白質は 3 量体型に属するものである。ヒト

					腫瘍組織ではこの3量体型 MTAP が欠損しており、3量体型 MTAP によるアデニンのサルベージが重要であるとともに3量体型 MTAP の分子機構を理解することは新規治療法の開発の道を開くものである。	
3-isopropylmalate dehydratase small subunit (IPMI)	1V7L	Released	04/11/16		微生物や植物におけるアミノ酸ロイシンの生合成反応に関与する IPMI (大、小の2つの subunits) の詳細な反応機構を解明するための構造解析。解析の結果、C 末端のシステインが結晶学的な2回軸で関係付けられた2分子間で S-S 結合を形成し、安定な結晶構造を形成していることが分かった。	
Hemoglobin from river lamprey	IUC3	Released	03/04/29		最も原始的な脊椎動物の一種であるヤツメウナギのヘモグロビンは他の脊椎動物のヘモグロビンと異なるモノマーあるいはダイマーとして存在しており、数種のアイソフォームが異なる比率で存在していることなどいくつかの独自の特徴を持っている。	
MCI-5'Ump complex	IUCD	Released	04/05/18		ニガウリ種子由来のリボヌクレオナーゼ MCI は植物をウイルス等外来の遺伝子の感染より守る生体防御因子であることが報告されている。MCI の非自己由来 RNA を認識し分解するメカニズムを解明するため MCI と基質類似体複合体を構造解析した。	
MCI-3'Ump complex	IUCU	Released	03/04/29		他のリボヌクレオナーゼには見られない絶対的なウラシル特異性を解明するため、MCI と基質類似体 3'UMP との複合体構造を解析し、MCI のウラシル認識機構が明らかになった。	
MCI-2'Ump complex	IUCA	Released	03/04/29		MCI と基質類似体 2'UMP との複合体構造解析により、機能に必要なアミノ酸残基が特定できた。植物がウイルスに感染した場合に、本酵素を応用することで、それを植物体内から駆除することが可能になると思われる。	
MCI N71T mutant	IUCG	Released	03/04/29		上記の3つの MCI の変異体から得られた情報により、MCI のウラシル認識に最も重要な残基を特定した。そして、そのアミノ酸残基の変異体の構造解析を行った結果、変異した MCI は基質特異性が変化し、本来の基質ではないグアニン塩基を認識することが分かった。これらの MCI の機能を利用して、植物体内から感染したウイルスを駆除することが可能になる	
$\alpha$ -xylosidase	IWE5	Released	05/02/15		糖質関連酵素の基質である糖質の構造は非常に多様性に富んでいる。そのため、これらの酵素の構造生物学的研究を行うことは、極めて応用価値が高い。大腸菌由来 $\alpha$ -xylosidase は糖質から $\alpha$ -xylose を遊離する反応を触媒する糖加水分解酵素であり、また一次配列を基に分類された糖加水分解酵素群 (GHファミリー) では立体構造未知のファミリーに属する。	
L-asparaginase type I	IWLS	Released	05/03/15		大腸菌のアスパラギナーゼは、細胞質に存在する Type I、およびペリプラズムに存在する Type II の二種が知られており、特に Type II に関しては小児リンパ性白血病に対する抗癌作用が発見される。古細菌 <i>P. horikoshii</i> に存在するアスパラギナーゼは、Type I に分類される。Type I は Type II に比べ基質特異性が低く、また立体構造もいまだ解析されていない。本構造解析により、アスパラギナーゼの構造機能相関の解明が期待される。	
PH0010 ヒト AMMECR1 C 末領	IVAJ	Released	05/01/25		AMME は遺伝子の Xq22.3-q23 領域で欠損が起こることによる隣接遺伝子欠損症候群と呼ばれる循環器症候群である。この症候群で欠損する遺伝子の一	

域相同タンパク質					つである <i>AMMECRI</i> のコードするタンパク質 <i>AMMCRI</i> の C 末領域 (122 から 333) は、生物種間で高度に保存されている。PH0010 はこのヒト由来 <i>AMMCRI</i> の C 末領域と高い相同性があり、構造解析の結果、新規構造モチーフをとっていることが確認された。
RmlC from <i>Sulfolobus tokodaiti</i>	1WLT	Released	05/07/26		RmlC は dTDP-L-rhamnose 生合成経路において dTDP-4-dehydrothamnose 3,5-epimerase として働く酵素である。dTDP-L-rhamnose は病原性バクテリアの細胞壁を構成する要素であり、一部の病原性バクテリアでは dTDP-L-rhamnose 生合成経路に関連する遺伝子を破壊すると生育能を失うことが知られている。RmlC は抗菌剤開発の創薬ターゲットであり、その立体構造解析をもとにした創薬の開発が期待できる。
2'-5' RNA ligase	1VGJ	Released	05/06/07		バクテリアと古細菌に特有の 2'-5' RNA ligase は、真核細胞における tRNA 前駆体のスプライシングの第 2 段階の反応である 3' と 5' ホスホジエステルを連結する RNA ligase と異なって、tRNA の 2' と 5' ホスホジエステルの結合を触媒する酵素である。tRNA のスプライシング反応において多くの謎につつまれたタンパク質である 2'-5' RNA ligase の立体構造解析に成功したこと、今後、機能説明が進むものと思われる。
Phosphomannomutase/P hosphoglucomutase	1WQA	Released	05/10/04		好熱菌内で浸透圧調節に関わっている蛋白質 PH0923 は、糖リン酸基転移酵素として細菌類に幅広く保存されている phosphomannomutase/phosphoglucomutase (PMM/PGM) 活性を持つ酵素である。本酵素の構造と類似する緑膿菌由来 PMM/PGM は緑膿菌の病原性獲得に必須の酵素であり、構造を元にした薬剤設計が期待される。また本酵素は 60°C の条件で活性を有しており、構造情報は産業利用の際に情報資源となる。
Mannosyl-3-phosphogly ce ratephosphatase+MG+p hosphate	1WZC	Released	2006/2/28		好熱菌特有の浸透圧調節物質 mannosylglycerate 合成の最終反応を行う mannosyl-3-phosphoglyceate phosphatase PH0926 は HAD like hydrolase の多くは脱リン酸化酵素であり、基質の種類は多岐にわたる。本酵素の基質は糖を含む分子であるため、解析された結晶構造は基質の分子認識に関する有用な情報を与えられられる。
Histidyl synthetase (Ta0099)	1WU7	Released	2005/12/6		Ta0099 は古細菌由来 histidyl tRNA synthetase (HisRS) である。これまでに報告されている真正細菌由来の HisRS との比較から、Ta0099 は tRNA との結合に関するインサージョンドメインの構造が異なる事が明らかになった。古細菌の HisRS の活性発現機構が真正細菌と異なる可能性を示唆している。
SAV0287-N-terminal domain	1WV3	Released	2005/12/20		本蛋白質は院内感染の原因菌である <i>Staphylococcus aureus</i> の病原因子の一つであり、下痢性疾患との関連性が示唆されているが、詳細な機能は明らかになっていない。N 末端ドメインの構造は、細胞分裂関連蛋白質と類似していることが明らかになった。今後、構造情報を基にした機能解析が進行すると期待される。
RNA methyltransferase	1WY7	Released	2005/12/13		RNA メチルトランスフェラーゼは生物に幅広く存在している。PH1948 は RNA メチルトランスフェラーゼと予測され、立体構造未知のファミリーに

(PH1948)					属す、得られた構造にSAHが結合していること及びRNA MTases ErmCの立体構造との比較から、PH1948はSAM-dependent RNA Mtaseであることが分かった。今後、機能解析に進む。
endo-beta-1,4-glucanase CMCax	1WZZ	Released	2006/3/14		細菌が生産するセルロースは、植物由来のセルロースとは異なる様々な特徴を持つことから、新規のセルロース材料として注目されている。今回構造解析したセルラーゼCMCaxはセルロース生産菌由来であり、セルロース合成に深く関わる重要なタンパク質である。本構造解析の成功は、セルロースの生合成のメカニズムを解明する道を開くものである。
転写因子 HNF-6a-DNA 複合体	2D5V	Released	2005/11/7		HNF-6は肝臓特異的転写因子であり、肝細胞の発生や分化、増殖などの調節のほか、代謝に関連する多様な遺伝子の転写調節機能を有する。このことから、当該構造を基盤とした阻害剤設計により、糖尿病をはじめ多様な糖関連疾患の創薬への応用が期待される。
Staphylococcus aureus 由来 Dps	2D5K	Released	2006/10/17		Dpsは酸化ストレスからDNAを保護する、ストレス応答蛋白質であるが、一方で、Feの貯蔵にも関与するという2つの特性をもつ多機能蛋白質である。Feの獲得は病原菌が生育する上で重要なイベントであり、その機構解明は抗病原菌薬の創製において非常に重要となる。
Oligopeptide-binding protein	2D5W	Released	2006/11/7		真正細菌由来のOligopeptide-binding protein (TTHA1634)は細菌のペプチド輸送系において、基質をABCトランスポーターに受け渡すinitial receptorである。今回、構造解析の結果から、5残基からなるペプチドと結合していることが判明し、基質配列に依存しない結合様式に関する新たな知見が得られた。
alpha-glucosidase	2D73	Released	2007/02/27		糖加水分解酵素の分類法GHファミリーでは、同じファミリーに属する酵素の立体構造、触媒反応機構が保存されていることが知られている。GH97はこれまでに酵素化学的な性質および構造に関して報告されていない未知のファミリーである。そこで、GH97に分類されるalpha-glucosidaseの立体構造解析を行うことで、触媒反応、基質認識機構を明らかにし、さらにGH97の共通する性質について考察できるものと考えられる。
翻訳開始因子 aIF2β -aIF2γ複合体	2D74, 2DCU	Released	2006/8/1		真核生物・古細菌の翻訳開始反応は様々な環境変化、発生過程等において厳密にコントロールされており、近年、神経疾患や記憶など組織特異的な現象との深い関連性も指摘されている。今回、翻訳開始反応において中心的な役割を果たす開始因子a/eIF2βγ複合体の構造解析を行い、βサブユニットがGTP結合部位近傍に結合し、両サブユニットの可動性が機能に大きく関与していることを見出した。
GatCAB複合体	2F2A, 2G5H, 2G5I, 2DF4,	Released	2006/7/18		バクテリアにおいて、GatCABは誤って合成したGlu-tRNA <sup>Gln</sup> をGln-tRNA <sup>Gln</sup> に変換する。我々は多剤耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)由来GatCABの結晶構造を決定し、GatCABの反応機構を解明した。GatCABはバクテリアでは必須酵素であるが、ヒトを含む真核生物では利用されていないので、本構造を元にGatCABに対する阻害剤を設計することにより、広範囲の病原菌に対する有効な抗生物質になると期待される。

TetR (transcriptional regulator) (Sc21222411)	2D6Y	Released	2006/10/31	Sc21222411は抗生物質耐性に関与するTetRファミリーに属するタンパク質である。構造解析の結果、二量体で存在し、DNA結合領域と転写制御領域から構成されていることが明らかとなった。さらに基質結合ポケットを有することから、二次代謝産物の産出を制御していると推定された。			
PHS023	2CVI	Released	2006/6/3	機能未知ではあるが、一次配列から転写制御関連因子と推定されるタンパク質。類似タンパク質の研究から、低分子リガンドにより多量体構造が変化することが明らかになりつつあり、その制御機構は興味深い。好熱菌由来であることから安定性の高く、多量体形成制御機構を利用したセンサーなどへの応用が期待できる。			
PHI1109	2CZZ/2E 6U	Released	2006/7/20	PHI1109は古細菌、真核生物に渡って保存されているにも関わらず機能未知であった。今回、構造解析の結果、発現ホストである大腸菌由来の補酵素A(CoA)と結合していることが明らかとなった。補酵素Aは生体内の様々な経路に使われているため、補酵素A結合タンパク質であるPHI1109は生命活動において重要な働きを担っているものと予想される。			
Hypothetical (ST0242) protein	2F7L	Released	2006/12/5	超好熱古細菌由来のST0242酵素は、グルコース及びマンノースの1位または6位に結合しているリン酸基の位置を交互に変換する反応を80°Cという高温で触媒する。本酵素によって作られる糖1リン酸は、NTPと結合し、微生物の外膜構造構築の基質となるNDP糖を生成する。本酵素は微生物の外膜構造の構築に必須なことから、今後構造情報に基づいた新規抗生物質の設計も期待される。また熱安定性が高いことから、蛋白質の安定性機構の解明に資するのみでなく、産業的な利用の可能性も期待される。			
セルロース分解酵素触 媒モジュール Cel44A	2D8G/2E 4T, 2EOP, 2E07, 2EEX, 2EJ1, 2EQD	on hold		Cel44Aは、セルロース分解性細菌のセルラーゼ活性の中核を担う糖加水分解酵素ファミリー44に属すセルラーゼである。現在までにグルカナナーゼ、キシラナーゼ、リケナーゼ、キシログルカナナーゼ活性が確認されていたが、立体的構造情報は得られていなかったため、酵素反応の詳細は不明であった。今回の立体的構造解析により、反応機構、基質認識機構が分子レベルで明らかになり、特にエネルギー産業において有用性が期待できる。			
beta-1,3-xylanase catalytic module	2DDX	Released	2007/2/13	藻類細胞の細胞壁主要構成成分であるb-1,3-xylanを分解するユニークな酵素、Vibrio sp. AX-4由来b-1,3-xylanase (EC 3.2.1.32)のX線結晶構造を、原子分解能(0.86Å)にて明らかにした。当該活性を持つ酵素のX線結晶構造はこれまで例がなく、本知見によって酵素自体の立体構造、特にその活性部位の詳細な構造が明らかとなった。また、糖質分解酵素の分子進化という観点からも非常に興味深い。			
Drp35	2DG0,	Released	2006/12/12	Drp35は黄色ブドウ球菌が細胞壁合成阻害系抗生物質や界面活性剤にさらさ			



					<p>れた際に過剰発現する蛋白質で、Ca<sup>2+</sup>依存性のラクトナナーゼ活性を有する。このため、黄色ブドウ球菌が薬剤耐性を獲得するに当たり、重要な役割を担っていると考えられている。本研究により、Dtp35がb-propeller構造を有していることが明らかになった。さらに、活性が著しく低下したDI38N変異体の構造解析の結果から、DI38、D236、Ca<sup>2+</sup>が関与するDtp35のラクトナナーゼ活性発現機構を提案した。</p>
EbhA-SGA7-8	2DGJ	Released	2007/03/20	Released	<p>EbhAは黄色ブドウ球菌の細胞表面に存在する接着因子、分子量約720kDaの超巨大蛋白質である。約120残基から構成される基本配列が46回繰り返してつながっており、本研究では、7-8番目のドメインの構造を決定した。細胞表面蛋白質はワクチン薬のターゲットであるので、今後の構造・機能解析は感染予防の創製において非常に重要となる。</p>
FadR homologue (transcriptional regulator) (CGL2915)	2DI3	Released	2007/3/28	Released	<p>FadR familyに属している転写制御因子CGL2915の構造・機能解析により、この転写因子は乳酸塩とフルクトースに関与する蛋白質のオペロンを制御する新規転写因子であることが示された。乳酸塩とフルクトースがアミノ酸生産に利用されるために、この2つのオペロンは、アミノ酸生産菌 <i>C. glutamicum</i> として、非常に重要である。今後構造情報を基礎に機能の解明は、産業への利用に基盤情報を提供することができる。</p>
MerR homologue (transcriptional regulator) (SCO5550)	2DG6	Released	2007/3/13	Released	<p>SCO5550は、MerR family (細胞内の金属イオン濃度の調節に関与) のDNA結合ドメインのみが、高い構造類似性を示したが、興味深いことに制御ドメインは完全に新規構造であることが明らかとなった。今後、この新規転写因子の新規制御機能の解明を進め、産業利用の可能性を見出していく。</p>
TetR homologue (transcriptional regulator) (SCO0337)	2DG7	Released	2007/3/13	Released	<p>SCO0337は、薬剤耐性に関与するTetR familyに分類されるが、helix-turn-helix motifの空間的配置が他と比べて大きく異なることから、DNA結合には大きな構造変化がおきていることが推定された。このダイナミックな構造変化はTetR familyの中で新規の知見である。</p>
TetR homologue (transcriptional regulator) (SCO7518)	2DG8	Released	2007/3/13	Released	<p>SCO7518は、保存されたhelix-turn-helix motifと制御ドメインからなる、典型的なTetR familyの立体構造であった。この転写因子は抗生物質関連遺伝子の発現制御に関与する可能性が示唆されることから、今後ターゲット遺伝子の解明を進め、産業利用の可能性を見出していく。</p>
Yart homologue (transcriptional regulator) (CGL2947)	2DU9, 2EK5	on hold			<p>YtrA familyに属しているCGL2947はDNA結合ドメインと約50残基の小さな機能ドメインから形成される。構造解析の結果、機能ドメインが2本のhelicesで釣り針の形を形成し、さらに2つの単量体の釣り針-helicesが絡み合わせて、新規な2量体を形成することが明らかになった。このような安定な2量体を形成する小さなドメインを工蛋白質工学、結晶工学への利用することが期待できる。</p>
HindIII	2E52	on hold			<p>HindIIIはHaemophilus influenzae Rd株由来のII型制限酵素であり、回文配列</p>

					5'-AAGCTT-3'を認識し、5'側のAとAの間を加水分解する。本解析は、HindIIIと基質DNAの複合体の解析であり、これによりHindIIIの基質DNA認識、および切断活性のメカニズムが明らかになった。
Hypothetical protein (PH0356)	2E8G	on hold			PH0536は古細菌 <i>P. horikoshi</i> 由来 tRNA 結合に関わる蛋白質である。得られた構造は新規構造であり、helices bundle のN末端とOB-foldのC末端ドメインから形成される。PH0536のOB-foldは、tRNA合成酵素によく保存され、ヒトEMAP IIのOB-foldとよく似ているから、tRNAの結合能力を示された。また、helices bundle ドメインは蛋白質-蛋白質結合ドメインとしてよく見られる。よって、PH0536の構造はtRNA synthetases-like 蛋白質の進化研究にとつて非常に興味深い。
paralytic peptide	1V28	Released	2004/10/26		(1)昆虫の変態をコントロールする麻痺性ペプチドの新種。 (2)成長因子やサイトカイン機能との関連性が高い。 (3)低分子量タンパク質であり酵母での遺伝子発現系構築の可能性あり(類縁生物由来の同様ペプチドで成功) (4)ジスルフィド結合を1つもつ逆平行βシートのターン構造中に特徴的な芳香環をもつこと。 (5)有用タンパク質産生系としての昆虫テクノロジー産業化へ貢献の可能性あり さらに、タンパク質全般のNMR立体構造解析に拡張可能な新規精密解析法の支援技術開発に最適な検証用モデルペプチドのひとつである。
FMBP1(R1)	1VD7	Released	2005/3/29		(1)新規転写制御関連タンパク質(カイコ由来)DBDの部分タンデムリピート1,2,3,4
FMBP1(R2)	1VD8				(2)日本で最も早く分子遺伝学研究が進んだカイコ絹糸腺細胞の組織特異的・時期特異的発現制御の転写制御因子は解明されていないが、その構造生物学としての解明がすすむ可能性のある重要なタンパク質
FMBP1(R3)	1VD9				(3)昆虫のカイコは、微生物宿主にかかわる新たな有用タンパク質発現系宿主として注目されている。とくに、カイコのゲノム解明とトランスジェニックカイコの開発は昆虫テクノロジープロジェクトとして農水省で実施されている。このような背景のもと、カイコ由来新規転写制御関連蛋白質(FMBP1)の構造・機能解明は昆虫産業界への貢献度が極めて高い。
FMBP1(R4)	1VDA				(4)機能未解明の新規の配列。DBDとしてタンデムリピート構造をもつ。 (5)カイコのゲノム解明とトランスジェニックカイコの開発は昆虫テクノロジーで注目されており、FMBP1の構造解明から効率的なタンパク質発現に寄与できる可能性がある。
FMBP1(R1_2)	1VDB	Released	2005/3/29		(1)新規転写制御関連タンパク質(カイコ由来)DBDの部分タンデムリピート1,2,3,4(有機溶媒系での構造変化解明)
FMBP1(R2_3)	1WNK		2005/7/19		(2)日本で最も早く分子遺伝学研究が進んだカイコ絹糸腺細胞の組織特異的・時期特異的発現制御の転写制御因子は解明されていないが、その構造生物学としての解明がすすむ可能性のある重要なタンパク質
FMBP1(R2_2)	1WNM		2005/8/16		(3)昆虫のカイコは、微生物宿主にかかわる新たな有用タンパク質発現系宿主と

FMBP1(R2_4)	1WNN			<p>して注目されている。とくに、カイコのゲノム解明とトランスジェニックカイコの開発は昆虫テクノロジープロジェクトとして農水省で実施されている。このような背景のもと、カイコ由来新規転写制御関連蛋白質 (FMBP1) の構造・機能解明は昆虫産業界への貢献度が極めて高い。</p> <p>(4)機能未解明の新規の配列。DBDとしてタンデムリピート構造をもつ。</p> <p>(5)カイコのゲノム解明とトランスジェニックカイコの開発は昆虫テクノロジーで注目されており、FMBP1 の構造解明から効率的なタンパク質発現に寄与できる可能性がある。</p>
Mb GBP SI GBP 23GBP 28GBP(solution) 28GBP (DPC micelle)	2DJ9 2DJC 2EQH 2EQQ, 2EQT	Released  on hold	2007/3.31	<p>(1)昆虫の変態をコントロールする麻痺性ペプチドの新種。</p> <p>(2)成長因子やサイトカイン機能との関連性が高い。</p> <p>(3)低分子量タンパク質であり酵母での遺伝子発現系構築の可能性あり (類縁生物由来の同様ペプチドで成功)</p> <p>(4)ジスルフィド結合を1つもつ逆平行βシートのターニング構造中に特徴的な芳香環をもつこと。</p> <p>(5)有用タンパク質産生系としての昆虫テクノロジー産業化へ貢献の可能性あり、さらに、タンパク質全般のNMR 立体構造解析に拡張可能な新規精密解析法の支援技術開発に最適な検証用モデルペプチドのひとつである。</p>
Canine Milk Lysozyme	2CW1	Released	2006/6/20	<p>(1)溶菌活性を有する抗細菌タンパク質</p> <p>(2)極めて安定な、変性中間体 (MG状態) を有するためタンパク質のフォールディングの研究のモデルタンパク質として重要なタンパク質。</p> <p>(3)このタンパク質の変性中間体 (MG状態) の異常な安定化の要因の解明は、球状タンパク質のフォールディング経路の解明にとって重要な意味を持つと考えられているため、効率の良いタンパク質の大量生産などの基礎となることが期待される。</p> <p>(4)変性中間体 (MG状態) を安定化する相互作用に関する新規の知見を得ることに成功した。これは、タンパク質のフォールディングデザインに関する重要な知見である。</p> <p>(5)本来の機能である溶菌活性に関しても立体構造から興味深い知見を得ており、応用利用が期待される点である。</p>
ASABF (Antibacterial Peptide Isolated from a Nematode, <i>Ascaris Suum</i> )	2D56	Released	2006/11/14	<p>(1)線虫由来の抗細菌ペプチド。</p> <p>(2)モデル生物 <i>C.elegans</i> を含めて、線虫の抗細菌ペプチドの立体構造解析に成功した世界初の成果である。</p> <p>(3)極めて安定性の高い抗細菌ペプチドでその安定化のメカニズムは興味深い。</p> <p>(4)多種の生物から部分的に相同性の高いペプチドをもつものは発見されているものの、ASABF は興味深い2ドメイン構造を有しており、分子全体としてはまったく新規の立体構造であり、大きなインパクトをもつ成果である。</p> <p>(5)この分子の立体構造と抗菌活性の相関の解明は、抗菌分子のデザインにつながる可能性を有している。</p>
				(抗細菌ペプチドデザイン)

D-Aldohexose Dehydrogenase(AldT)	2DTD	Released	2007/03/27	古細菌より同定された AldT は、D-マンノースに対する特異性が高い新規アルドヘキソースデヒドロゲナーゼである。血中 D-マンノース濃度と各種疾患との関連性が多数報告されているもの、これまで血中 D-マンノース濃度の測定は煩雑で自動分析装置での測定法が確立されていなかった。本酵素の構造を決定しタンパク質工学的に機能変換することは、グルコースセンサーに使用されているグルコースデヒドロゲナーゼの基質(グルコース)特異性を高めるための基盤情報を取得や、D-マンノース解析に向けた医薬診断用酵素としての利用などが期待される。	東洋紡(株)
抗腫瘍抗原 CEA 特異的 抗体 T84.66 可変領域	IJO5	Released	2003/01/14	腫瘍抗原として幅広い癌細胞表面に発現し、診断マーカーとして用いられている CEA に特異的に結合する抗体 T84.66 の可変領域断片である。	
HyHEL-10 Fv Mutant LY50F 抗原 複合体	IJI0	Released	2003/01/14	モデル抗体として、相互作用解析研究を進めてきた、ニフトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 の L 鎖 Tyr50 を Phe に変異させた変異体である。	
HyHEL-10 Fv Mutant LS91A 抗原 複合体	IJI1	Released	2003/01/14	モデル抗体として、相互作用解析研究を進めてきた、ニフトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 の L 鎖 Ser91 を Ala に変異させた変異体である。	
HyHEL-10 Fv Mutant LS93A 抗原 複合体	IJI X	Released	2003/01/14	モデル抗体として、相互作用解析研究を進めてきた、ニフトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 の L 鎖 Ser93 を Ala に変異させた変異体である。	
HYHEL-10 FV MUTANT SFSF 抗 原複合体	IUA6	Released	2002/02/28	モデル抗体として、相互作用解析研究を進めてきた、ニフトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 の重鎖 Tyr53Ser54Ser56Tyr58 を無作為に変異、標的変異抗原に対する高い親和性を持つ変異体として選択された Ser53Phe54Ser56Phe56 変異体と変異抗原の複合体である。	
HYHEL-10 FV MUTANT SFSF 抗 原複合体	IUAC	Released	2002/03/08	モデル抗体として、相互作用解析研究を進めてきた、ニフトリリゾチーム特異的抗体 HyHEL-10 の重鎖 Tyr53Ser54Ser56Tyr58 を無作為に変異、標的変異抗原に対する高い親和性を持つ変異体として選択された Ser53Phe54Ser56Phe56 変異体と野生型抗原の複合体である。	
<i>Pho</i> CutA·Cu <sup>2+</sup> complex <i>Pho</i> CutA	IUKU IJJV	Released Released	2004/09/01 2004/01/13	CutA は 2 価の金属の調節機構に関与するタンパク質であると考えられているが、その機能に関する知見は得られていなかった。我々は <i>Pho</i> CutA の Cu <sup>2+</sup> との複合体の構造解析を行い、CutA の金属への結合様式を理解することが出来た。金属結合には酸素原子のみが関与していたが、これは重金属イオンのタンパク質への配位法として新規な例である。また、構造解析の結果は、	

				in vitro の実験から得られた <i>PhoCutA</i> の 2 価の金属イオンに対する分子特性を強く裏付ける結果であった。	
<i>PhoCutA</i> -GdnHCl complex	IUMJ	Released	2004/10/05	<i>PhoCutA</i> は、分光学的解析よりタンパク質変性剤である塩酸グアニジン (GdnHCl) に対し、極めて高い安定性を有するという、興味深いタンパク質であることが示されている。我々は 3M GdnHCl 中で <i>PhoCutA</i> の結晶を調製し、その構造を決定した。高濃度の GdnHCl 中での構造解析の例はない。得られた構造情報を基に、 <i>PhoCutA</i> の構造安定性や、GdnHCl のタンパク質に及ぼす影響に関する知見を得ることが出来た。	
<i>StoPIMT</i>	IVBF	Released	2004/08/10	<i>StoPIMT</i> は、他の生物由来 PIMT に比べ C 末端側に約 30 残基ほど長いという特徴を有する。また他の PIMT は単量体なのに対し、 <i>StoPIMT</i> は 6 量体として存在している。構造解析の結果、C 末端の 30 残基は coiled coil 構造を形成し、6 量体形成に関与していた。更に、この部位は、その多量体化能を利用し、他のタンパク質を多量体化させることが可能であり、工学材料としての産業利用へとつながった。	C 末端の $\alpha$ -helix ドメインは、蛋白質を多量体化できる新規ペプチドとして特許申請済みである。
<i>StoPCNA</i>	IUD9	Released	2004/06/15	真核生物由来の PCNA はホモ 3 量体として機能するタンパク質であるが、古細菌由来の PCNA はヘテロ 3 量体として機能する。構造解析の結果、単量体の構造は極めて良く類似していた。接触部位の残基の違いから、ホモ 3 量体を形成できない要因について構造的な知見を得た。	
ST2072	IVEO	Released	2005/03/22	ST2072 は多種の生物間で広く保存されている機能未知タンパク質である。結晶構造内には亜鉛イオンと酢酸イオンが確認され、それらは保存性の高い残基と結合していたことから、ST2072 が酵素であると推察できた。	
ST1454	IWOZ	Released	2005/10/04	ST1454 はコバラミンアデノシルトランスフェラーゼである。構造解析と、種々の生化学的データ、コンピューターシミュレーションの結果を合わせ、ST1454 の機能発現に関する詳細な知見を得ることが出来た。また、ST1454 は変性剤に強い耐性を有する事が分かっており、その要因についての構造的知見も得る事ができた。	
ST2180	IWVT	on hold		ST2180 は上記の ST1454 のホモログ蛋白質である。2 つの構造の比較と、コンピューターシミュレーション、生化学的実験から、各タンパク質の生体内での機能に関する知見を得る事ができた。	
ST0229	IWSC	Released	2005/11/08	ST0229 は多種の生物間で広く保存されている機能未知タンパク質である。非対称単位中に存在する 2 分子の構造の違いから、活性部位の構造がフレキシブルであることが示された。現在、機能解析を行っている。	
PH0178	IJ08	Released	2003/05/11	多種の生物間で広く保存されている機能未知タンパク質である。	

Hypothetical protein (ST0656)	2DGD	Released	2007/3/13	ST0656 は多種の生物間で高度に保存されている機能未知蛋白質で、明らかになった立体構造から本蛋白質が酵素であることが強く示唆された。	
IsdH-NEAT3	2E7D	Released	2007/01/09	本ドメインは、黄色ブドウ球菌の鉄取り込みに関連する蛋白質の機能ドメインの一つであり、重要なワクチンタンナーゲット蛋白質である。構造・機能解析から、ヘム鉄結合に関する知見を得ることができた。	
Anti-ciguatoxin 抗体 Fv-ドメイン	2E27	Released	2006/11/08	シガトキシンの一部位と、それを認識する抗体の複合体の結晶構造解析を行った。低分子化合物の認識機構を理解する上で重要となる知見が得られた。	
eRF3c eRF3c-GDP bound form eRF3c-GTP(GMPPNP) bound form	1R5B 1R5N 1R5O	Released	2004/5/25	ペプチド鎖解離因子(eRF3)は、翻訳終結因子として、全タンパク質の生合成に関わる。高等動物では、疾患に関連する表現系に因り、将来の創薬ターゲットとして有用である。	
ミトコンドリアセリルトRN合成酵素	1WLE	Released	2005/09/06	他の生物種も含めてオルガネラ由来のアミノシルtRNA合成酵素として、初めての構造解析であり、アミノシルtRNA合成酵素の進化的な観点から非常に有用な情報である。また、今回解析された分解能1.6オングストロームは、これまでに報告されているどのアミノシルtRNA合成酵素の立体構造よりも高い分解能である。ヒトの遺伝子は、DFNA4の遺伝子座に位置し、難聴の原因遺伝子の可能性が指摘されており、今後、実際の患者でこの遺伝子に変異が見つかれば、構造生物学的な見地から疾患の発症機構の研究につながることも期待される。	
Acidian trypsin inhibitor	1IW4	Released	2002/8/28	ATIは3本のジスルフィド結合による特徴的な構造を持つホヤ由来のプロテアーゼ阻害剤である。ジスルフィド結合による構造安定化機構の解明に有用である。	
Ovomucoid domain (Silver Pheasant)	1IY5, 1IY6	Released	2003/3/12	Ovomucoidは近年問題となっている卵アレルギーの原因物質の一つであり、その構造活性相関の解明は重要である。	
Neocarzinostatin	1O5P	Released	2003/10/14	Neocarzinostatinは高い抗癌作用を示すタンパク質であり、その作用は結合している特異な化学構造を持つクロモフォアに依存している。立体構造解析によって示された、Neocarzinostatinのクロモフォア安定化・放出機構は、抗癌剤の創薬において重要な知見となる。	
Endothelin-1	1V6R	Released	2004/3/16	Endothelin-1は強力な血管収縮活性を示すペプチドで、血管状態の恒常性維持に重要である。その立体構造は循環器系疾患や、高血圧といった疾病を標的とした創薬において重要な知見を与える。	

L16		1WKI	Released	2004/12/14	L16は50Sリボソームサブユニットの構造形成と活性保持に不可欠なタンパク質である。アヴィラマイシンなど幾つかの抗生物質との相互作用が示唆されており、その構造は新規抗菌剤の開発に重要な知見となる。
Sp1 DBD		1VA1, 1VA2, 1VA3	Released	2005/2/8	Sp1は普遍的な転写因子であり、様々な遺伝子の転写制御に重要な役割を担っている。今回解析したDNA結合ドメインは、特異な認識配列を示す亜鉛フィンガーモチーフを有しており、任意のDNA配列を認識する人工転写因子・人工制限酵素や、プロテインチップの設計に有用な知見を与える。
50S/RRF-DI complex		1Y69	Released	2005/3/1	RRFは真性細菌の蛋白質合成に必須な翻訳因子である。そのリボソーム結合ドメインであるRRF-DIと、50Sリボソームとの複合体構造は、翻訳装置の作動機構解明に関し重要な知見となる。また、リボソームを標的とした新規抗菌剤の開発に寄与する。
AEI		1Y1B, 1Y1C	Released	2005/7/19	AEIは特異な構造を持つインギンチャク由来のプロテアーゼ阻害剤である。本研究では、ジスルフィド結合の改変体構造を併せて解析し、阻害特異性と構造との相関を解析することで、阻害剤の合理的改変に有用な知見が得られた。
3alpha-hydroxysteroid dehydrogenase		2DKN	Released	2006/08/15	Hydroxysteroid 脱水素化酵素の補酵素結合に伴う基盤結合部位の形成機構を新たに解明した。
Nicotinamide Phosphoribosyltransferase		2E5B	on hold		ニコチンアミドリン酸リボース転移酵素の基質複合体の構造から、その反応機構を解明した。
Nicotinamide Phosphoribosyltransferase		2E5C	on hold		
Nicotinamide Phosphoribosyltransferase		2E5D	on hold		
RAGE V-type domain		2E5E	on hold		RAGEは糖尿病血管合併症の発症・増悪に関与しており、立体構造に基づく阻害剤の探索・設計が期待されている。
翻訳開始因子 IF-2B		1VB5	Released	2004/12/07	真核生物翻訳開始因子2タンパク質(新規)、耐熱性
翻訳開始因子 aIF-5A		1IZ6	Released	2003/01/28	好熱菌由来翻訳開始因子、耐熱性
リボヌクレアーゼ H		1UAX	Released	2004/06/29	好熱菌由来リボヌクレアーゼ、耐熱性
リボヌクレアーゼ NW		1IYB	Released	2003/08/05	植物葉傷害誘導性RNA分解酵素。
リボヌクレアーゼ MC1 (N71T 変異体)		1J1F	Released	2003/05/20	ウリジン特異的RNA分解酵素のグアニン特異性への改変、基質類似体との複合体の構造解析。

5'-GMP 複合体							
リボヌクレアーゼ MC1 (N71S 変異体)	IJ1G	Released	2003/05/20		ウリジン特異的 RNA 分解酵素のグアニン特異性への改変. 基質類似体との複合体の構造解析.		
5'-GMP 複合体							
PhoRelE-phoReIB 複合体	1WMI	Released	2005/03/15		細菌由来翻訳反応抑制因子の阻害剤 (新規構造)		
リボヌクレアーゼ P 蛋白質サブユニット PH1877p(ヒト Rpp30 ホモログ)	1V77	Released	2004/08/31		リボザイム構成タンパク質 (新規構造) 耐熱性酵素		
リボヌクレアーゼ P 蛋白質サブユニット PH1771p(ヒト Rpp29 ホモログ)	1V76	Released	2004/10/05		リボザイム構成タンパク質 (新規構造), 耐熱性酵素		
リボヌクレアーゼ P 蛋白質サブユニット PH1496p(ヒト Rpp38 ホモログ)	2CZW	Released	2006/4/25		リボザイム構成タンパク質 (類似構造) 耐熱性酵素		
リボヌクレアーゼ P 蛋白質サブユニット PH1481p(ヒト pop5 ホモログ)	2CZV	Released	2006/6/27		リボザイム構成タンパク質 (新規構造), 耐熱性酵素		
リボヌクレアーゼ P 蛋白質サブユニット PH1601p(ヒト Rpp21 ホモログ)	1X0T	Released	2004/11/15		リボザイム構成タンパク質 (新規構造), 耐熱性酵素. tRNA の 5' 末端を特異的に切断するリボザイム (RNaseP) 構成蛋白質の立体構造解析により RNaseP の触媒反応メカニズム, 耐熱性メカニズムの解明に大きく貢献する. 亜鉛結合性.		
Human estrogen-related receptor gamma ligand binding domain complex with bisphenol A	2E2R	on hold			環境ホルモンの疑いのあるビスフェノール A とヒト核内受容体の複合体ビスフェノール A の内分泌攪乱作用のメカニズム解明に大きく貢献する.		



Human Neutral Cytosolic beta-Glycosylceramide complex with Glucose and fatty acids	2E9L	on hold		新規のヒト由来の beta-Glycosylceramidase 糖脂質の代謝に関わる酵素 酵素反応メカニズムの解明に大きく貢献する.	
Human Neutral Cytosolic beta-Glycosylceramide complex with Galactose and fatty acids	2E9M	on hold			
ヒトリゾチーム変異型 (I59A/C77,95A)	1IX0	Released	2003/3/22	蛋白質の安定性における水の役割に関する研究	
トリプトファン合成酵素 サブユニット	1V8Z	Released	2005/2/25	蛋白質の熱安定性と複合体形成による活性増幅機構の解明のための基礎データ	
トリプトファン合成酵素 2 2 複合体	1WDW	Released	2005/7/12	複合体形成による酵素活性増幅機構の解明	
MutT	2E1G	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明	
MutT-Mn 複合体	2E1I	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明	
MutT-Cd 複合体	2E1J	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明	
MutT-8-oxo-dGMP 複合体	2E1K	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明	
MutT-8-oxo-dGMP-Mn 複合体	2E1L	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体	1X0Y	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明と動的結晶学による加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP-Mn 複合体	1X0Z	on hold		突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明と動的結晶学による加水分解反応機構の解明	
IMP-1 共有結合型阻害剤複合体	1VGN	Released	2005/6/25	病原細菌のラクタム系抗生物質に対する薬剤耐性の原因蛋白質メタロβ-ラクタマーゼ IMP-1 の阻害剤開発への応用	
IMP-1 DA 変異型	1V69	Released	2005/5/29	病原細菌のラクタム系抗生物質に対する薬剤耐性の原因蛋白質メタロβ-ラクタマーゼ IMP-1 の反応機構解明	
IMP-1 DE 変異型	1V68	Released	2005/5/29	病原細菌のラクタム系抗生物質に対する薬剤耐性の原因蛋白質メタロβ-ラクタマーゼ IMP-1 の反応機構解明	

IMP-1 蛍光試薬複合体	2DOO	Released	2006/11/28	病原細菌のラクタム系抗生物質に対する薬剤耐性の原因蛋白質メタロβ-ラクタマーゼ IMP-1 の蛍光検出試薬の開発への応用	
pyrrolidone carboxyl peptidase 変異型 (E192A)	1X10	Released	2006/6/13	タンパク質の熱安定性における分子内部のグルタミン酸による水素結合の役割	
pyrrolidone carboxyl peptidase 変異型 (E192D)	1X12	Released	2006/6/13	タンパク質の熱安定性における分子内部のグルタミン酸による水素結合の役割	
pyrrolidone carboxyl peptidase 変異型 (E192Q)	1Z8T	Released	2006/6/13	タンパク質の熱安定性における分子内部のグルタミン酸による水素結合の役割	
pyrrolidone carboxyl peptidase 変異型 (E192I)	1Z8W	Released	2006/6/13	タンパク質の熱安定性における分子内部のグルタミン酸による水素結合の役割	
pyrrolidone carboxyl peptidase 変異型 (E192V)	1Z8X	Released	2006/6/13	タンパク質の熱安定性における分子内部のグルタミン酸による水素結合の役割	
hMTH1-8-oxo-dGMP 複合体	1Z8Z	on hold		ヒトにおける hMTH1 の突然変異と異常 RNA 合成抑制に働く原子レベルでの仕組みの解明 (新規の幅広い基質特異性獲得機構の発見) と新規抗がん薬の候補となる阻害剤の設計	熊本大学薬学部 創薬研究センター 関連企業(未定)
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 1	2D71	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 2	2D72	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 3	2D75	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 4	2D76	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 5	2D77	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
MutT-8-oxo-dGTP 複合体の結晶内反応 6	2D78	on hold		動的結晶学を用いた MutT による 8-oxo-dGTP の加水分解反応機構の解明	
TNF 変異体	2E7A	on hold		抗炎症剤開発の基礎データとなる TNFRI 選択的アンタゴニストの X線構造解析	
ヒト由来トリプトファン	1ULH	Released	2004/02/01	tRNA のアミノシル化以外に、血管内皮細胞にアポトーシスを誘導することにより、血管新生を抑制することから、癌や失明疾患の治療に応用される。	住友化学薬品

ニル tRNA 合成酵素							
CCA 付加酵素・tRNA プライマー・ATP 複合体	1VFG	Released	2004/08/10			DNA の鑄型なしで決まった配列の RNA を重合する RNA ポリメラーゼの反応機構を世界にさがりかけて解明した。本構造に基づいて CCA 付加酵素を改変することにより、新規のアミノ酸を tRNA に結合させる技術の開発につながる可能性がある。	
リシジン合成酵素 Tis	1WY5	Released	2005/05/03			tRNA のコドン特異性とアミノ酸特異性を人為的に制御することで、新規のアミノ酸をタンパク質中に導入することが可能となる。	住友化学薬品
メチオニル tRNA 合成酵素と tRNA (と Met-AMP) の複合体	2CSX, 2CT8	Released	2005/8/4			本酵素は 2 種類の異なるメチオニン tRNA を厳密に認識してメチオニンを結合することで正確な遺伝暗号の翻訳を保証している酵素であり、本複合体の結晶構造に基づいて、非天然アミノ酸を標的タンパク質に導入するタンパク質工学に応用できる。	
TusBCD チオ化酵素	2D1P	Released	2006/2/28			本酵素は tRNA のアンチコドン 1 字目にチオ化修飾を行うことにより、tRNA のコドン特異性とアミノ酸特異性を同時に変換し、正確な遺伝暗号の翻訳を保証している酵素である。エイズウイルス HIV が自分の mRNA を逆転写する際にプライマーとして tRNA(Lys)を用いるが、この際、逆転写酵素による tRNA(Lys)の認識に tRNA アンチコドンのチオ化修飾が必須であることから、本酵素の阻害剤を開発することで、エイズの治療に応用できる可能性がある。	
tRNA 依存性アミド基転移酵素 GatDE と tRNA(Gln)との複合体	2D6F	Released	2006/7/11			多くのバクテリア、オルガネラ、古細菌には GlnRS が存在せず、代わりに GluRS が tRNA <sup>Gln</sup> に Glu を結合させ、tRNA 依存性アミド基転移酵素が tRNA に結合した Glu を Gln に変換する。バクテリアでは、GatCAB ヘテロトリアマーが、古細菌では GatDE ヘテロダイマーがこの反応を触媒する。したがって、Gln-tRNA <sup>Gln</sup> の合成経路は、真性細菌、古細菌、真核生物でみな異なることになる。GatCAB と GatDE は相溶性が高いため、本結晶構造に基づき、GatCAB の阻害剤、すなわちバクテリアの Gln-tRNA <sup>Gln</sup> の合成経路を特異的に遮断する薬剤が開成できれば、極めて有効な抗生物質になると期待される。	
Cocrystal structure of an RNA sulfuration enzyme MnmA and tRNA-Glu	2DER, 2DET, 2DEU	Released	2006/8/15			tRNA <sup>Glu</sup> , tRNA <sup>Gln</sup> , tRNA <sup>Lys</sup> のアンチコドン 1 字目のウリジンにチオ化の修飾を入れる酵素で、化学反応生の高い硫黄を正確な位置に導入する機構を持っており、合成化学の分野で貢献できる可能性がある。	
Complex structure of CCA-adding enzyme	2DV1, 2DR5, 2DR7, 2DR8, 2DR9,	Released	2006/11/14			すべての tRNA の 3'末端に正確に CCA 配列を、鑄型なしで重合する酵素で、反応ステップごととのスナッピングショットをすべて解明し、動的な反応機構を明らかにした。計算機シミュレーションの精度を上げることにより、貢献できると考えられる。	



## 2. 主要な論文リスト

Insight into a natural Diels-Alder reaction from the structure of macrophomate synthase

Toyoyuki Ose, Kenji Watanabe, Takashi Mie, Mamoru Honma, Hiromi Watanabe, Min Yao, Hideaki Oikawa, and Isao Tanaka

*Nature* **422**, 185-189 (2003)

PDB ID: 1IZC

Wobble modification differences and subcellular localization of tRNAs in *Leishmania tarentolae*: implication for tRNA sorting mechanism

Kaneko, T., Suzuki, T., Kapushoc, S.T., Rubio, M.A., Ghazvini, J., Watanabe, K., Simpson, L. and Suzuki, T

*EMBO J.* **22**, 657-667 (2003)

Structural basis for template-independent RNA polymerization

K. Tomita, S. Fukai, R. Ishitani, T. Ueda, N. Takeuchi, D. G. Vassylyev, and O. Nureki

*Nature* **430**, 700-704 (2004)

PDB ID: 1VFG

Crystal structure and functional analysis of the eukaryotic class II release factor eRF3 from *S. pombe*

Kong C, Ito K, Walsh MA, Wada M, Liu Y, Kumar S, Barford D, Nakamura Y, Song H

*Mol Cell.* **14**, 233-245 (2004)

PDB ID: 1R5B, 1R5N, 1R5O

A short peptide insertion crucial for angiostatic activity of human tryptophanyl-tRNA synthetase

Y. Kise, S. W. Lee, S. G. Park, S. Fukai, T. Sengoku, R. Ishii, S. Yokoyama, S. Kim and O. Nureki

*Nat. Struct. Mol. Biol.* **11**, 149-156 (2004)

PDB ID: 1ULH

- Codon-specific translational defect caused by a wobble modification deficiency in mutant tRNA from a human mitochondrial disease  
Kirino, Y., Yasukawa, T., Ohta, S., Akira, S., Ishihara, K., Watanabe, K. and Suzuki, T  
*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **101**, 15070-15075 (2004)
- Crystal structure of archaeal ribonuclease P protein Ph1771p from *Pyrococcus horikoshii* OT3: An archaeal homolog of eukaryotic ribonuclease P protein Rpp29  
Tomoyuki Numata, Ikuko Ishimatsu, Yoshimitsu Kakuta, Isao Tanaka, and Makoto Kimura  
*RNA* **10**, 1423-1432 (2004)  
PDB ID: 1V76
- How oligomerization contributes to the thermostability of an archaeon protein: Protein L-Isoaspartyl-O-methyltransferase from *Sulfolobus tokodai*  
Yoshikazu Tanaka, Kouhei Tsumoto, Yoshiaki Yasutake, Mitsuo Umetsu, Min Yao, Harumi Fukada, Isao Tanaka, and Izumi Kumagai  
*J. Biol. Chem.* **279**, 32957-32967 (2004)  
PDB ID: 1VBF
- Crystal structure of archaeal toxin-antitoxin ReE-ReIB complex with implications for toxin activity and antitoxin effects  
Hisanori Takagi, Yoshimitsu Kakuta, Takahiro Okada, Min Yao, Isao Tanaka and Makoto Kimura  
*Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 327-331 (2005)  
PDB ID: 1WMI
- Structural basis for anticodon recognition by methionyl-tRNA synthetase  
K. Nakanishi, Y. Ogiso, S. Fukai and O. Nureki  
*Nat. Struct. Mol. Biol.* **12**, 931-932 (2005)  
PDB ID: 2CSX, 2CT8
- X-ray crystallography study on ribosome recycling: the mechanism of binding and action of RRF on the 50S ribosomal subunit.  
Wilson D. N., Schlutzenzen F., Harms J. M., Yoshida T., Ohkubo T., Albrecht R., Buerger J., Kobayashi Y., Fucini P.

*EMBO J.* **24**, 251-260 (2005)

PDBID: 1Y69

Dual Mode Recognition of Noncanonical tRNAs<sup>Ser</sup> by Seryl-tRNA Synthetase in Mammalian Mitochondria

Chinnaronk, S., Jeppesen, M.G., Suzuki, T., Nyborg, J. and Watanabe, K.

*EMBO J.* **24**, 3369-3379 (2005)

PDB ID: 1WLE

Structural basis for lysidine formation by ATP pyrophosphatase accompanied with a lysine-specific loop and a tRNA-recognition domain

Nakanishi, K., Fukai, S., Ikeuchi, Y., Soma, A., Sekine, Y., Suzuki, T. and Nureki, O.

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 7487-7492 (2005)

PDB ID: 1WY5

Molecular basis of alanine discrimination in editing site

Masaaki Sokabe, Ayuko Okada, Min Yao, Takashi Nakashima, Isao Tanaka

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **102**, 11669-11674 (2005)

PDB ID: 1WNU, 1WXO, 1V7O

The CGL2612 Protein from *Corynebacterium glutamicum* Is a Drug Resistance-Related Transcriptional Repressor: Structural and Functional Analysis of a Newly Identified Transcription Factor from Genomic DNA Analysis

Hiroshi Itou, Ui Okada, Hiroaki Suzuki, Min Yao, Masaaki Wachi, Nobuhisa Watanabe and Isao Tanaka

*J. Biol. Chem.* **280**, 38711-38719 (2005)

PDB ID: 1V7B

Crystal Structure of a Ribonuclease P Protein Ph1601p from *Pyrococcus horikoshii* OT3: An Archaeal Homologue of Human Nuclear Ribonuclease P Protein Rpp21

Yoshimitsu Kakuta, Ikuko Ishimatsu, Tomoyuki Numata, Kazumi Kimura, Min Yao, Isao Tanaka, and Makoto Kimura

- Biochemistry* **44**, 12086-12093 (2005)  
PDB ID: 1X0T
- Structural basis of RNA-dependent recruitment of glutamine to the genetic code  
Oshikane H, Sheppard K, Fukai S, Nakamura Y, Ishitani R, Numata T, Sherrer RL, Feng L, Schmitt E, Panvert M, Blanquet S, Mechulam Y, Soll D, Nureki O.  
*Science* **312**, 1950-1954 (2006)  
PDB ID: 2D6F
- Ammonia Channel Couples Glutaminase with Transamidase Reactions in GatCAB  
Akiyoshi Nakamura, Min Yao, Sarin Chinnaronk, Naoki Sakai, Isao Tanaka  
*Science* **312**, 1954-1958 (2006)  
PDB ID: 2DF4, 2DQN, 2F2A, 2G5H, 2G5I
- Snapshots of tRNA sulfuration via an adenylylated intermediate  
T. Numata, Y. Ikeuchi, S. Fukai, T. Suzuki and O. Nureki  
*Nature* **442**, 419-424 (2006)  
PDB ID: 2DER, 2DET, 2DEU
- Complete crystallographic analysis of the dynamics of CCA sequence addition  
Tomita K, Ishitani R, Fukai S, Nureki O.  
*Nature* **443**, 956-960 (2006)  
PDB ID: 22DVI, 2DRB, 2DRA, 2DR9, 2DR8, 2DR7, 2DR5
- Crystal structures of leucyl/phenylalanyl-tRNA-protein transferase and its complex with an aminoacyl-tRNA analog  
Suto K, Shimizu Y, Watanabe K, Ueda T, Fukai S, Nureki O, Tomita K.  
*EMBO J.* **24**, 5942-5950 (2006)



PDB ID: 2DPT, 2DPS

Biosynthesis of wybutosine, a hyper-modified nucleoside in eukaryotic phenylalanine tRNA

Noma, A., Kirino, Y., Ikeuchi, Y. and Suzuki, T.

*EMBO J.* **25**, 2142-2154 (2006)

The dynamic state of DNA topology is essential for genome condensation in bacteria

Ohniwa, R.L., Mirikawa, K., Kim, J., Ohta, T., Ishihama, A., Wada, C. and Takeyasu, K.

*EMBO J.* **25**, 5591-5602 (2006)

Structure of archaeal translational initiation factor 2 -GDP reveals significant conformational change of the -subunit and switch 1 region

Masaaki Sokabe, Min Yao, Naoki Sakai, Shingo Toya, and Isao Tanaka

*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **103**, 13016-13021 (2006)

PDB ID: 2D74, 2DCU

Structural basis for sulfur relay to RNA mediated by heterohexameric TusBCD complex

Numata, T., Fukai, S., Ikeuchi, Y., Suzuki, T. and Nureki, O.

*Structure* **14**, 357-366 (2006)

PDB ID: 2D1P

*In vitro* reconstitution of the GTPase-associated centre of the archaeobacterial ribosome: the functional features observed in a hybrid form with *Escherichia coli* 50S subunits

Takaomi Nomura, Kohji Nakano, Yasushi Maki, Takao Naganuma, Takashi Nakashima, Isao Tanaka, Makoto Kimura, Akira Hachimori and Toshio Uchiumi

*Biochem. J.* **396**, 565-571 (2006)

Crystal Structure of Protein Ph1481p in Complex with Protein Ph1877p of Archaeal RNase P from *Pyrococcus horikoshii* OT3: Implication of Dimer Formation of the Holoenzyme

- Shin Kawano, Takashi Nakashima, Yoshimitsu Kakuta, Isao Tanaka and Makoto Kimura  
*J. Mol. Biol.* **357**, 583-591 (2006)  
PDB ID: 2CZV
- Structural and Mutational analyses of Drp35 from *Staphylococcus aureus*: a possible mechanism for its lactonase activity  
Yoshikazu Tanaka, Kazuya Morikawa, Yu Ohki, Min Yao, Kouhei Tsumoto, Nobuhisa Watanabe, Toshiko Ohta, and Isao Tanaka  
*J. Biol. Chem.* **282**, 5770-5780 (2007)  
PDB ID: 2DG0, 2DG1, 2DSO
- DNA Recognition Mechanism of the ONECUT Homeodomain of Transcription Factor HNF-6  
Daisuke Iyaguchi, Min Yao, Nobuhisa Watanabe, Jun Nishihira and Isao Tanaka  
*Structure* **15**, 75-83 (2007)  
PDB ID: 2D5V
- Structural Approach to a Novel Tandem Repeat DNA-Binding Domain, STPR, by CD and NMR  
S. Saito, T. Aizawa, K. Kawaguchi, T. Yamaki, D. Matsumoto, M. Kamiya, Y. Kumaki, M. Mizuguchi, S. Takiya, M. Demura, K. Kawano  
*Biochemistry*, **46**, 1703-1713 (2007)
- Crystal structure analysis reveals a novel forkhead-associated (FHA) domain of ESAT-6 secretion system C (EssC) protein in *Staphylococcus aureus*  
Yoshikazu Tanaka, Makoto Kuroda, Yoshiaki Yasutake, Min Yao, Kouhei Tsumoto, Nobuhisa Watanabe, Toshiko Ohta and Isao Tanaka  
*Proteins*, in press  
PDB ID: 1WV3