

5 - 5 翻訳後修飾と輸送

グループ名 個別的解析プログラム名(翻訳後修飾と輸送)
中核機関名 高エネルギー加速器研究機構
代表者名 若槻 壮市

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

各グループの遺伝子ソースを集中してタンパク質の大量発現・精製・結晶化を行うために高エネ研に設置した中核施設を活用するとともに、長岡技大、昭和大、阪大医、産総研でも協力しつつ平行して結晶構造解析を進めた。NMR構造解析は名古屋市大で行い、他の拠点とタンパク質の調製について情報交換を行ったり、複合体相互作用解析の強力なツールとしてNMRを用いた共同研究をX線解析グループと行う事で、相乗的な効果を上げている。これら構造解析を主に行う拠点と、生体内での機能解析を主に行う拠点が有機的に共同研究体制を取る事によって、目的とする生命現象の解明は当初の予想通り着実に成果を上げた。また、蓄積した情報を活用する事で、バイオインフォマティクスによる、タンパク質のリガンド結合部位予測プログラムが開発され、グループ内で公開され試用を開始した。

構造を決定したタンパク質の数は220を超え、当初目標の80,見直し後の目標150のいずれも超えている。また、発表論文数もほぼ300に達し、併せて極めて活発に研究が行われた成果であると言える。内容的にも、構造機能解析により未知の生命現象を明らかにするという方針は揺るぎのないもので、順次、学会や雑誌発表などを通じて成果の公表を行った。技術開発も積極的に行い、国内の企業の協力で開発した大規模結晶化観察ロボットの他、ビームラインの高効率化、セレノメチオニンタンパク質のピキア酵母発現系の確立、セミインタクト細胞チップを利用した計測システムの構築、糖タンパク質糖鎖の迅速構造解析法の開発などを行った。

また、高エネ機構では放射光施設を擁する拠点として、世界最高水準のビームラインPF-AR-NW12Aおよび、日本で最大面積となる検出器を備えた新ビームラインPF-BL-5Aの技術開発と整備を行った。さらに微小集光ビームラインPF-BL-17Aの整備を行い、既存のPF-BL-6Aをあわせて、これらがさらに効率的に使用できるよう日々性能の向上を行った。タンパク3000プロジェクト個別的解析プログラムのために、これらを4本のタンパク質結晶構造解析の全ビームタイムの約30%を特別枠(S2課題)として確保し、その運用を行った。

グループ全体の研究体制

機能解析

細胞内輸送

中野明彦（理研・中央研）：責任者
 中山和久（京大・薬）
 大野博司（理研・免疫アレルギー科）
 加藤博章（京大・薬）
 深井周也（東工大・生命理工）
 村田昌之（東大・総合文化）
 若槻壮市（高エネ研）

翻訳後修飾

川崎敏祐（京大・薬）：責任者
 谷口直之（阪大・医）
 地神芳文（産総研・精鎖工学セ）
 加藤晃一（名市大・薬）
 長谷純宏（阪大・理）
 若槻壮市（高エネ研）

バイオインフォマティクス

構造解析

NMR構造解析

加藤晃一（名市大・薬）：責任者
 安定同位体標識
 3次元構造解析
 相互作用解析

X線溶液散乱

片岡幹雄（奈良先端大）
 加藤龍一（高エネ研）
 野中孝昌（長岡技大）
 タンパク質の溶液中での構造解析
質量分析
 長谷純宏（阪大・理）
 糖鎖・糖タンパク質の構造解析

X線結晶構造解析

若槻壮市（高エネ研）：責任者
 I. 発現精製結晶化中核施設
 加藤龍一、川崎政人（高エネ研）
 II. 結晶構造解析
 五十嵐教之、松垣直宏、川崎政人、
 山田悠介、加藤龍一（高エネ研）
 野中孝昌（長岡技大）
 田中信忠（昭和大学・薬）
 深井周也（東工大・生命理工）
 III. ビームラインの整備と
 高度化技術開発
 五十嵐教之、松垣直宏、平木雅彦、
 山田悠介、加藤龍一（高エネ研）

挿入光源を用いたハイスルー
 ットビームライン, NW12



挿入光源を用いた最新の
 ハイスルーットビームライン,
 BL-5



高エネ研の放射光
 ビームラインの
 個別的解析プログラムへの
 サプライ

全ビームタイム
 の約30%

高エネ機構・放射光科学研究施設でのビームタイム使用実績

中核拠点 代表者氏名	拠点名	2003 年度	2004 年度	2005 年度	2006 年度	合計
倉光 成紀	代謝系	12	25	15.5	17.5	70
田之倉 優	発生・分化とDNAの複製・修復	3	8.5	10.5	9	31
田中 勲	転写・翻訳（北海道大学）	1	7.5	11.5	17.5	32.5
西村 善文	転写・翻訳（横浜市立大学）	8	14	8.75	6	36.75
三木 邦夫	タンパク質高次構造形成と機能発現	0	1	7.5	6.5	15
稲垣 冬彦	細胞内シグナル伝達	1	3.5	5.5	5.5	15.5
中川 敦史	脳・神経系	3	8	11	8.5	30.5
若槻 壮市	翻訳後修飾と輸送	13	18	16.5	12	59.5
合計		41	85.5	86.75	77.5	290.75

（単位：日）

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	171	54
(2)構造解析を終了したが PDB未登録のタンパク質 の数	83	83

(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	8	
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	296	82
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)	13 件	1 件
特許出願数(海外)	2 件	0 件
(2)特許登録数(国内)	4 件	3 件
特許登録数(海外)	1 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: 7 件 <ul style="list-style-type: none"> ・創薬を目的としたタンパク質のX線結晶構造解析に関する民間共同研究(4件:高エネ機構) ・結晶化の自動化装置開発の改良に関する民間共同研究(高エネ機構) ・糖タンパク質糖鎖の迅速構造解析法の開発と応用(名古屋市大) ・セミインタクト細胞チップを利用した、輸送阻害・活性化物質・ケミカルライブラリーの自動アッセイ・スクリーニング系の構築をバイオベンチャー企業および顕微鏡開発企業とともに準備中(東大) 	
(4)成果の産業移転に関する具体的な例	<ul style="list-style-type: none"> ・共同開発企業による大規模結晶化ロボットの小型版装置の販売(高エネ機構) ・糖鎖科学ベンチャー「グライエンス」の設立(名古屋市大) 	
(5)出願した特許の具体的な例	<ul style="list-style-type: none"> ・タンパク質結晶にX線を照射する際に、結晶を保持するのに適した高分子材料の開発(高エネ機構) ・タンパク質結晶を母液から自動的にすくい上げるシステムの開発(高エネ機構) ・糖鎖構造解析手法(名古屋市大) ・μ3B 遺伝子欠損非ヒト動物(横浜理研) ・活性、基質特異性を变化させたヌクレオチド脱リン酸化酵素(産総研) ・酵母に SeMet 耐性を付与し、酵母での SeMet 化タンパク質の生産が可能となる宿主、およびメチオニンアミノアシル tRNA 合成酵素遺伝子を酵母に導入して得た形質転換体が良好な L - SeMet 化タンパク質生産性を有するを見いだした。(産総研) 	
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		
<ul style="list-style-type: none"> ・大規模結晶化観察ロボット(高エネ機構) 高エネ機構の研究者のアイデアの元、日本国内の企業と協力して、世界最高速度で結晶化のスクリーニングを行い、全自動で結晶精製の観察を行うことのできるシステムを開発した。本研究班を中心に開発したシステムを実際の研究に用い、既に多くのタンパク質結晶を得ることに成功している。このように本装置はタンパク質の結晶化スクリーニングに非常に有用であることが示され、必要なサンプル量の少量化や結晶化プレート保存容量の拡大が次の課題である。 ・大面積・高速読出X線検出器 quantum315 Detector System(高エネ機構) 315mm 角の検出面積(CCD 型検出器としては導入時世界最大)を持ち、非常に高速(約1秒)でデータを読み出すことが可能な、タンパク質結晶構造解析用 CCD 型検出器。Photon Factory のビームライン 		

BL-5A に平成 15 年に導入され、以後約 3 年間タンパク 3000 プロジェクトのユーザー実験に利用された。大きな検出面積を生かし、格子定数の大きな巨大タンパク質結晶の測定や超高分解能測定で特に威力を発揮した。また、1 データセットの収集が 10 ~ 20 分以内で完了可能となり、測定のハイスループット化に大きく貢献した。

・構造生物コラボサーバーシステム LS - 3700 - 16 - 3 - 32G (高エネ機構)

本システムは、64bit 型計算機サーバ、高速磁気ディスク装置、グラフィックワークステーションから成り、平成 15 年に高エネルギー加速器研究機構の計算機センター内に設置された。同時に敷設されたファイバーとレイヤー 3 スイッチで構成された高速ネットワークにより、ビームラインや研究室と結びつけられ、タンパク 3000 プロジェクトの実験により生み出される膨大なデータや情報を一元管理し、包括的に扱うことを可能にした。また、ユーザー管理やデータアクセスに関しても、LDAP/NFS/Samba システムを導入することにより、一元的に行なうことが可能になり、ビームラインや実験装置を問わず、保全性を確保しながら実験を行なうことができるようになった。

・NMR 用のクライオプローブ装置一式 (名古屋市大)

本装置を整備することにより、今までより低ノイズでの NMR 測定が可能にあり、得られる測定データの情報が格段に向上した。

育成された人材

本プロジェクトの期間を通じ、合計 21 名のポスドク等研究員を雇用し、うち 4 名は大学の助手および助教、15 名は大学等研究機関 (海外含む) でポスドク等研究員、2 名は企業に就職した。技術補助員等に関しては、合計 17 名 (短期および単純作業補助を除く) を雇用した。その後の進路は、技術補助員 13 名、家事手伝い 3 名、特許事務所 1 名。

それぞれの内訳 (カッコ内は進路) は以下の通りである。

・高エネ機構 (若槻)

ポスドク等研究員 13 人 (東京大学 助教 1 名、ポスドク等研究員 11 名、企業 1 名)
技術補助員等 11 人 (技術補助員等 9 名、家事手伝い 2 名)

・長岡技大 (野中)

ポスドク等研究員 1 人 (岩手医科大学 助手)

・名古屋市大 (加藤晃一)

ポスドク等研究員 2 人 (分子科学研究所 助教 1 名、企業 1 名)

・横浜理研 (大野)

ポスドク等研究員 1 人 (ポスドク等研究員)
技術補助員等 4 人 (技術補助員等 2 名、特許事務所 1 名、家事手伝い 1 名)

・原研 (由良)

ポスドク等研究員 1 人 (ポスドク等研究員)

・阪大 (谷口)

ポスドク等研究員 2 人 (佐賀大学 助教 1 名、ポスドク等研究員 1 名)

・産総研 (地神)

技術補助員等 2 人 (技術補助員等 2 名)

・理研中央研 (中野)

ポスドク等研究員 1 人 (ポスドク等研究員)

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

高エネ機構 (若槻)

世界最高速度の大規模結晶化観察ロボットの開発を国内の企業と協力して行った。また、タンパク質 X 線結晶構造解析用ビームラインの性能を向上させるため、米国 SSRL と協力してのサンプル交換ロボットの導入と改良や、最新 CCD 検出器の導入とそのセットアップ、ビームライン制御ハードウェアおよびソフトウェアの整備、それらを容易に使用出来るような統合 GUI の開発と導入等を積極的に行った。

名古屋市大 (加藤晃一)

SAXS および RDC のデータを利用することにより、マルチドメインタンパク質の立体構造を計算す

るための手法を確立した。

京大・薬（加藤博章）

発現宿主 *P. pastoris* を用いてジャーファンメンターで培養することにより、ほ乳類由来の膜タンパク質を大量発現させることに成功した。（未発表データ）

産総研（地神）

酵母に SeMet 耐性を付与し、酵母での SeMet 化タンパク質の生産が可能となる宿主の開発を行なった。この株と親株から得られたタンパク質の位相情報を比較することで、異常分散法により構造解析を行なうことが可能となった。これにより種々の（特にヒトの）タンパク質の構造解析が加速的に可能になると考えられる。

昭和大（田中）

高エネ機構の新規ビームラインの建設・立ち上げに関するユーザーの立場からの協力として、以下に代表されるテスト実験を行った。

・AR-NW12A における、亜鉛含有ホルムアルデヒド脱水素酵素の MAD データの迅速収集。ヒト脳由来ホスホジエステラーゼ微小結晶を用いた、SIRAS 法による構造解析。マラリア原虫由来加水分解酵素の長格子結晶のデータ収集と構造解析。ヒト由来リボヌクレアーゼ L・活性化因子複合体微小結晶を用いた、分子置換法による構造解析。

・BL17A における、分子量 20 万を超える結核菌由来加水分解酵素に関し、 $100\mu\text{m} \times 100\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 程度の板状結晶を用いて BL17A において 1.75\AA までの回折強度データの収集の成功。微小結晶を用いた回折写真測定例の提供。

東大・総合文化（村田）

セミンタクト細胞アッセイの自動化を目指し構築した「セミンタクト細胞チップ」(NEDO プロジェクト成果)を駆使して、ERES の形態形成阻害剤やキナーゼ(ジアシルグリセロールキナーゼ)を同定した。また、本プロジェクトにおいて構築した小胞輸送アッセイの幾つかをセミンタクトアッセイ自動化装置に自動化プログラムとして搭載した。

7. タンパク質の機能解析に関する成果の概要について

高エネ機構（若槻）

本研究班内外を通じ多数の研究者との共同研究を積極的に推進し、多数のタンパク質およびその複合体の X 線結晶構造を決定した。得られた構造に基づき、それらタンパク質群がどのような分子機構で働いているのかを共同研究先の研究者と共に明らかにすることができた。それらの代表例としては、

・細胞内輸送

中山和久（京大）: GGA の複数のドメインとそれと相互作用するタンパク質の複合体の立体構造解析から細胞内輸送の制御機構の分子基盤を明らかにした。さらにそこから発展して、細胞内タンパク質の寿命を制御するユビキチンとの相互作用についても明らかにし、GGA と相互作用するアクセサリタンパク質の解析までも研究を展開した。

中野明彦（理研・中央研）: 近年、出芽酵母で見出された、小胞体 - ゴルジ体間の糖タンパク質レセプターとして機能していると考えられる Emp46p/47p について、その糖鎖認識ドメイン (CRD) 単体およびそれらの金属結合体の結晶構造を明らかにし、分泌経路を経る新生タンパク質が小胞輸送において選別されるメカニズムの分子基盤を明らかにした。また、エンドソームの膜融合を制御する Rab5 様低分子量 G タンパク質 Ara7 およびそのヌクレオチド交換因子複合体の立体構造を決定することに成功した。

大野博司（理研・免疫アレルギー研究センター）: 極性輸送を制御しているアダプタータンパク質の μ サブユニットについて、その複数のサブタイプの立体構造を決定し、シグナル配列との比較により輸送制御の分子機構について考察することができた。

・翻訳後修飾

川寄敏祐、岡昌吾（京都大学）: 神経特異的に発現し記憶との関与も示されている HNK-1 糖鎖の合成を行う 2 つの酵素 GlcAT-P、S の立体構造を決定し、これらの酵素の基質特異性の分子機構を明らかにした。

地神芳文（産総研）:

山本憲二（京大）: ピフィズ菌でフコースを特異的に分解する酵素の立体構造の決定し成功し、今

まで知られていなかった酵素反応の分子基盤について新しい知見を与えると共に、この酵素を用いた有用物質の生産への道筋を付けた。

名古屋市大(加藤晃一)

NMR と部位特異変異実験により、タンパク質分解システムに関わるタンパク質の活性調節メカニズムを明らかとした。また、糖鎖ライブラリーを用いてフロントアルフィニティクロマトグラフィ法および NMR 法により、細胞内レクチンの糖鎖結合特異性を明らかとした。具体的には、翻訳後修飾系の破綻に起因する神経変性疾患の構造的基盤の解明、糖タンパク質の小胞輸送メカニズムおよびその破綻に起因する疾患発症の構造的基盤の解明、味覚修飾タンパク質の構造・機能解析に基づく味覚修飾物質の分子デザイン、について主に NMR 法と X 線結晶構造解析により成果を挙げた。

長岡技大(野中)

Bacillus circulans 由来キチナーゼ A1(ChiA1)の活性ドメインは、(/)₈ バレル構造で、基質が結合する深い溝を持っている。この溝における、芳香族アミノ酸とオリゴ糖との相互作用を解析した。特に結晶性キチンの加水分解における芳香族アミノ酸の役割を明らかにするため、これらの残基の部位特異的変異を行い、立体構造の知見と併せて触媒反応の詳細を明らかにした。また、3種4つのドメインからなる細菌キチナーゼ A1 (ChiA1) の低分解能の溶液構造を、X 線溶液散乱法を用いて決定した。ヒト由来ガレクチン - 8 アミノ末端 CRD と糖鎖複合体の立体構造を決定し、硫酸化糖鎖の特異的認識機構を明らかにした。リグニン化合物分解オキシゲナーゼの構造機能解析を行い、立体構造を決定することに成功した。これら以外にも、ヒト由来インターロイキン-18、そばアレルギー蛋白質などについて構造解析を行い、分解能は十分ではないものの回折能を与える結晶を得ることに成功した。

横浜理研(大野)

AP 複合体の機能について、特にあらゆる組織・細胞に発現する AP-2、神経特異的に発現する AP-3B、上皮細胞特異的に発現する AP-1B の機能に関して、細胞レベル、ならびに遺伝子欠損マウスの樹立解析による個体レベルでの役割について解明してきた。その結果、AP-2 は細胞の生存に必須であること、AP-3B は神経におけるシナプス小胞の形成に関与し、その欠損によりてんかん発作が起こること、AP-1B は上皮細胞における極性輸送を制御し、その欠損により、上皮細胞層の構造に異常を来し、欠損マウスでは腸管上皮の異常による発育不全が見られることを明らかにした。

京大(加藤博章)

ペルオキシソームにおける膜タンパク質の輸送系に係わる因子 Pex3p 及び Pex19p を中心に、以下の成果を得ることに成功した。

(1) ヒト由来 Pex19p の機能を *in vitro* タンパク質合成系を用いて解析する方法を確立するとともに、各種 PMP との相互作用について明らかにした。また、名古屋市立大加藤らの協力により、NMR を用いて ヘリックスを主体とする Pex19p の立体構造を解明した。

(2) Pex3p は N 末端側の細胞膜貫通領域を用いて、Pex3p と Pex19p の相互作用の定量的に解析し、Pex3p の Trp104 残基が結合に必須であることを同定した。さらに、PMP をペルオキシソームまで運んできた Pex19p が、ペルオキシソーム膜状の受容体 Pex3p と結合したときに形成すると考えられていた Pex19p—Pex3p—PMP22 三重複合体の単離に初めて成功した。

(3) PMP70 と Pex19p の相互作用を GFP 融合タンパク質による細胞内共局在を明らかにすることにより解析した。また、PMP70 の N 末端側 61 残基の領域が Pex19p との相互作用に必要であることを明らかにした。

(4) 4 回膜貫通型の膜タンパク質といわれているラット PMP22 をメタノールを炭素源としたときにペルオキシソームが激増する酵母 *Pichia pastoris* を用いて大量発現させることに初めて成功した。

(5) 代表的なペルオキシソームタンパク質である、ゲンジボタルルシフェラーゼの立体構造決定に成功し、その発光メカニズムの解明に成功した。

産総研(地神)

高エネ機構と協力して、ムチン型 O-グリカンの合成を司る酵素、pp-GalNAc-T10 の立体構造解析を行い、得られた構造から、retaining 型糖転移酵素の反応機構に関する考察とこの酵素の糖受容体基質の特異性に関して詳細な議論を行った。特に後者では部位特異的変異技術による変異型酵素を用いて生化学的実験を行い検証した。また、酵母ゴルジ体局在のヌクレオチドジホスファターゼである Ynd1p の構造を決定し、その触媒残基や活性に関与する残基の検討を行なった。得られた構造を基に、ヒト血小板表面に局在し血小板凝集に関与する CD39 抗原のホモロジーモデリングが可能であることが示唆された。

また、出芽酵母や分裂酵母で糖外鎖の生合成過程において最初のマンノースのみを転移する酵素

Och1p が、本来の基質である Man₈GlcNAc₂ やそれと類似した Man₉GlcNAc₂ に対して糖転移活性を有することを確認した。さらに生化学的解析を進めることにより、アクセプターとなる高マンノース型糖鎖構造全体を ScOch1p は認識しているという、これまでの仮説を強く裏付ける結果を得た。

東工大（深井）

新規 RalGAP を同定し、Ral 特異的な GTPase 活性化機構を明らかにした。また、Sec2p 結晶構造を決定し、その変異体解析とあわせて Sec4p 活性化機構明らかにすることに成功した。

理研・中央研（中野）

われわれは、翻訳後修飾と輸送グループの中で酵母と高等植物の小胞輸送における分子機構を明らかにすることを目的とし、酵母では、小胞体 - ゴルジ体間輸送の選別に関わる分子装置、一方植物では、エンドサイトーシス経路に関わる分子装置に注目した。その分子装置のコンポーネントを単体あるいは複合体として精製する手法を開発し、高エネ研・若槻グループとの共同研究で結晶化に結びつけた。また、これらのコンポーネントの機能解析の系を確立し、変異体解析等によって機能に必須の部位を同定し、構造機能相関解析の基礎データを得ることを目的として研究を行った。

阪大・理（長谷）

(1) α -fucosyltransferase の生体中の産物の解析：ゼブラフィッシュにおける本酵素の産物と推定されるオリゴ糖の構造を解析し、これらが遊離で存在することを見出した。

(2) endo- β -mannosidase の活性・構造・役割の解析：本研究ではメタノール資化性酵母を用いて endo- β -mannosidase の大量発現系の構築を行い、本酵素を量多く調製した。また、本酵素の発現量の異なるシロイズナズナ変異体を作成した。

東大・総合文化（村田）

小胞体 ゴルジ体間循環輸送の可視化解析システム及びセミインタクト細胞系を用いた当該輸送経路の可視化・再構成システムを構築した。これを駆使し、小胞体からの輸送小胞の budding site となる ER exit site (ERES) の細胞周期依存的な動態・分解過程をセミインタクト細胞で細胞質依存的に再構成し、M 期にける cdc2 kinase 依存的な p47 タンパク質のリン酸化が M 期における ERES 分解のトリガーであり、かつ M 期における小胞体 ゴルジ体の順行小胞輸送の停止の原因であることを明らかにした。この cdc2 kinase 依存的な p47 のリン酸化は小胞体ネットワークの M 期での部分的切断（小胞体 disassembly）にも関与し、これは p97/p47 の膜融合複合体の分解によるものであることを明らかにした。興味深いことに、p97/p47 システムだけでは小胞体ネットワークの M 期後の再構築（reassembly）は誘起されず、むしろ、1 段階目は NSF/SNAP 系の膜融合装置が働き、2 段階目に p97/p47/VCI135 の複合体が働くことを明らかにした。また、この 2 種の膜融合に共通の t-SNARE・syntaxin18 が関与することを 2 報の論文として発表した。最近、われわれは分割ユビキチン式膜タンパク質酵母 two-hybrid 法や従来の pull-down assay 法を用い、ERES のマーカー膜タンパク質である Yip1A が、Fgd4 というアクチン結合タンパク質やアクチン分子自身と結合していることを発見した。また、間期 ERES 構造体の形態形成を攪乱するキナーゼを網羅的に解析し、ジアシルグリセロールキナーゼを得た。これらのことより、ERES 構造の形成にはアクチンや PI の誘導体の関与があることを明らかにした。

阪大・微研（塩田）

TRIM5 α に変異導入を行い、TRIM5 α が多量体を形成して始めて抗 HIV-1 作用を発揮することを見出した。

京大付属病院（井戸）

Osteoactivin タンパク質の細胞内局在、およびマクロファージ系細胞の分化過程において発現誘導されることを明らかとした。

鹿児島大・医（坪内）

オステオアクチピンは、コリン欠乏アミノ酸置換食飼育食ラット（肝硬変モデル）の肝線維化進展を抑制した。

8. これまでの評価に対する反映状況について

ビームライン整備を代表とする基盤技術開発に対しては全般に高い評価を頂き、それに沿った方向をますます展開させ加速を図る方向でプロジェクトを進行させた。最新ビームライン AR-NW12 および BL-5 を含む 4 本のビームラインにおいては、タンパク 3000 個別的解析プログラムのユーザーに

ビームタイムの約30%を確保するとともに、不断の努力を継続してこれらビームラインの運用と改善を行った。製薬業界を始めとする産業界からは最新のビームラインを中心に利用希望が相次ぎ、民間共同研究と施設利用のシステムを用いてビームタイムの供給を行い、ビームライン基盤整備の成果を産業界に反映させている。また、今後のタンパク質構造解析の進む方向の1つは、「複合体結晶」「微小結晶」であると考え、微小集光ビームライン BL-17 の開発運用を行うと共に、新しいマイクロフォーカスビームラインの検討を開始している。

基盤技術開発に比べれば進展が遅い部分があると指摘された構造生物学研究については、プロジェクト途中より構造解析拠点を1カ所（東工大、深井）と、溶液構造の解析を行う拠点の1カ所（奈良先端大、片岡）に本研究班に加わって頂いたこと、中核機関におけるポスドク研究員の拡充と再配置を図ること、共同研究ネットワークの拡大を行ったこと、などの見直し作業を行った。その後、溶液散乱および NMR の手法の本プロジェクトへの寄与が見えにくいという評価については、それ以降、より積極的に構造解析グループと連携をとり、結晶化が困難な系に対し X 線溶液散乱や NMR を用いた構造解析を適応し、X 線結晶学的研究と相補的な研究、解析を行うことで、輸送に關与するマルチドメイン蛋白質の溶液構造や、そのタンパク質間相互作用を明らかにすることができ、それらを論文として発表することができた。

糖鎖生物学分野の研究者の枠を広げるべきという評価については、平成17年度から新たに3拠点の糖鎖を専門とする研究者の方に加わって頂き、それぞれと中核機関との共同研究をより推進する体制をとった。京大の山本憲二教授との共同プロジェクトは非常に順調に推移し、構造解析に成功すると共にそれに基づいた酵素反応機構を提案するなどの高い成果を得ることができた。他のプロジェクトは目的タンパク質が膜タンパク質であるなど極めて困難であるので、現時点でまだ成果を得るには至っていないが、それぞれタンパク質の発現に成功するなど、今後の進行が期待出来る状況である。

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）

構造を決定したタンパク質の数は目標以上を達成している。内容的にも、構造機能解析により未知の生命現象を明らかにするという方針は揺るぎのないもので、順次、学会や雑誌発表などを通じて成果を公表しつつある。PDB の登録・公開が多少遅れ気味であるが、論文発表に伴いこれらは解消される見通しである。特許出願数については特別に目標数を設定しなかったが、主に技術開発面で有用な特許を出願・取得することができ、目的を達成したと言える。

分担機関およびその課題一覧は次の通りである。

分担機関名	代表者	研究課題
高エネルギー加速器研究機構	若槻壮市	翻訳後修飾と輸送
大阪大学 医学研究科	谷口直之	がん化と免疫系に関わる糖転移酵素群
大阪大学 理学研究科	長谷純宏	Zebrafish の胚に特異的に発現する糖転移酵素等に関する研究
京都大学 薬学研究科	川寄敏祐、岡 昌吾	神経系に特異的に発現する糖転移酵素群に関する研究
京都大学 薬学研究科	加藤博章	ペルオキシソーム挿入型膜タンパク質の輸送タンパク質装置の構造機能解明と膜タンパク質発現系構築への応用
京都大学 薬学研究科	中山和久	タンパク質のゴルジ体からの選別輸送機構に関する研究
理化学研究所 免疫アレルギー科学総合研究センター	大野博司	膜タンパク質の選別輸送制御因子の構造機能解析
長岡技術科学大学 生物系	野中孝昌	細胞内輸送と糖代謝に関連するタンパク質群の X 線結晶構造解析と溶液構造解析
東京大学 総合文化研究科	村田昌之	細胞内輸送のダイナミズム可視化及び関連タンパク質の構造・機能相関解析
名古屋市立大学 薬学研究科	加藤晃一	タンパク質の細胞内における品質管理・輸送に関わる糖鎖認識タンパク質の構造・機能解析
昭和大学 薬学部	田中信忠	創薬を目指した糖修飾と細胞内輸送に関わるタンパク質群の X 線結晶構造解析
理化学研究所 中央研究所	中野明彦	酵母と高等植物の小胞輸送

日本原子力研究所 計算科学技術推進センター	由良 敬	細胞内輸送と翻訳後修飾のバイオインフォマティクス
産業総合研究所 糖鎖工学研究センター	地神芳文	糖ヌクレオチド代謝回路関連酵素群
奈良先端科学技術大学院大学 物質創生科学研究科 (H16年度から参加)	片岡幹雄	翻訳後修飾・輸送に関与するタンパク質のドメイン配置構造の解析
東京工業大学 生命理工研究科 (H16年度から参加)	深井周也	膜融合で働く繫留因子の結晶構造解析
東京都老人総合研究所 (H17年度から参加)	遠藤玉夫	先天性筋ジストロフィーに係わる糖転移酵素に関する研究
京都産業大学 工学部 (H17年度から参加)	黒坂 光	ムチン型糖鎖生合成開始反応に関わる糖転移酵素の構造と機能解析
京都大学 生命科学 (H17年度から参加)	山本憲二	有用腸内細菌が生産する新奇ファミリーに属する糖分解酵素についての研究
大阪大学 微生物病研究所 (H18年度から参加)	塩田達雄	ユビキチンリガーゼ活性を示すウイルス抵抗性宿主タンパク質の構造機能解析
京都大学 附属病院 (H18年度から参加)	井戸章雄	肝発癌、転移に関わるリソソーム局在膜タンパク質の翻訳後修飾と機能解析
鹿児島大学 医学部 (H18年度から参加)	坪内博仁	抗脂肪肝、抗肝線維化に関わるリソソーム局在膜蛋白質の構造・機能相関解析

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

本研究グループにおいては、方法論的には機能解析サブグループと構造解析サブグループに分かれ、生物学的対象分野としては細胞内輸送サブグループと翻訳後修飾（主に糖鎖修飾）サブグループに分かれる形で研究体制をスタートさせた。本研究分野の進展に伴い、細胞内輸送と糖鎖の認識代謝が今まで以上に密接に関わっている生命現象であることが明らかにされてきた。このような背景の中、両分野の研究グループを当初から組織した我々の研究グループの相乗効果は当初のねらい以上に優れていたと言える。

研究を推進するにあたっての本研究グループの枠組みは、機能解析に特化したグループが遺伝子材料と生物学的情報の提供を行い、それに基づいて構造解析グループが立体構造を決定し、その情報を基に機能解析グループと構造解析グループが共同して生物学的現象を明らかにする、であった。タンパク質の発現と精製は、どちらかのグループでかあるいは共同して行う。ここで、中核機関である高エネ研グループは、タンパク質の大量発現系の構築、発現、精製、結晶化、回折実験、構造解析、*in vitro*の機能解析の一部までを行う拠点として機能し、複数の機能解析拠点と密接な連携を取って、本研究プロジェクトを推進した。その過程で、バイオインフォマティクス拠点と情報交換をし、結晶化に向けて適したコンストラクトなどについての予測計算なども行った。このように、本研究グループでは、構造機能解析においては高エネ研が中核機関として各サブ機関とサンプルや情報の交換を行うことで研究を進め、連携性もその中で確保していく方針で運営している。また、X線結晶構造解析では得られない知見を得るために、NMRによる複合体の相互作用解析や、X線小角散乱による溶液中での分子の形状解析を併せて行うことで、総合的に得られる研究結果をより重要なものにし、その過程で各サブ拠点の連携性も高エネ研が中核機関としてリーダーシップを発揮している。

一方、放射光施設を擁する研究施設としてのX線ビームラインの高度化技術開発や運営については、本グループのみならず個別的解析プログラムに参加している研究者のニーズを可能な限り満足させるよう、今まで全国共同利用をサポートしてきた経験を十全に生かして高エネ研がリーダーシップを持って行った。

なお、本研究班の研究活動やビームラインの運営等については、ホームページを活用し積極的に行ってきた。

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

本プロジェクトにより、今まで国際的に手薄であった日本における構造生物学のインフラの整備が行われ、研究者数も増加したことは極めて評価に値する。また、構造生物学研究者ではない生化学者、分子細胞生物学者あるいは医学薬学などの研究者が、構造生物学的切り口で研究を行う数多くの機会を与えたという点で、個別的解析プログラムは非常に素晴らしく機能したと言える。現在の生物学がタンパク質の立体構造情報抜きでは語られないことは、昨今の権威ある国際雑誌を一覧すれば自明であり、日本国内の生物学のレベルが国際的に引けを取らないレベルに留まっているのは、本プロジェクトがあればこそである。

プロジェクトの趣旨からやむを得ないことではあったが、特にプロジェクト初期において構造解析数を意識する余り、構造解析を能率良く進めるための技術開発やその情報交換がやや手薄であったかもしれない。今後、本プロジェクトの成果が産業応用にも発展すること期待したい。

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
	309,855	612,000	301,000	289,983	277,375	1,790,213
設備費(千円)	177,148	360,508	49,901	24,852	9,192	621,601
人件費(千円)	15,868	96,238	125,426	116,185	100,559	454,276
運営費(千円)	105,718	130,485	109,092	130,539	149,488	625,322
管理費(千円)	11,121	24,768	16,581	18,406	18,136	89,012

(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)
GGA1-VHS	1JWF	Released	2002/3/6	クラスリンアダプタータンパク質GGA1のN末端にあり、積荷タンパク質受容体を認識するVHSドメインの立体構造を明らかにした。	
GGA1-VHS / M6PR complex	1JWG	Released	2002/3/6	リンソーム病は、正常な酵素がリンソームに輸送されないことよって起こる。リンソーム酵素受容体であるマンノース6リン酸受容体のC末端が、GGA1のVHSドメインによって正しく選別される機構を初めて明らかにした。	
API-year	1IU1	Released	2002/7/10	クラスリンアダプター複合体AP1のγサブユニットのearドメインは、AP2複合体の場合とは異なり、イムノグロブリン構造のみから成ることを明らかにした。	
GGA1 GAT	42H 1O3X	Released (再取得)	2003/5/20	GGA1のGATドメインは、ARFと結合することによりトランスゴルジ網膜にリクルートされる。GATドメインは、ARFと結合していない場合には3本のヘリックスからなり、ARFと結合する領域はdisorderしていることを明らかにした。	
ARF1(Q71L)	42H 1O3Y	Released (再取得)	2003/5/20	様々なオルガネラ膜において、輸送小胞出芽を開始させる重要なGTPaseであるARF1のGTP結合型の構造を解明した。	

ARF1(Q71L)-N-GAT domain complex	IJ2J	Released	2003/5/6	ARF1 と結合することにより、GAT の N 末端が安定なヘリックス - ループ - ヘリックス構造をとることを初めて明らかにした。	
GGA1-VHS / BACE complex	IUIJ	Released	2004/5/11	アルツハイマー病の原因とされている β -アミロイド(A β)を産生するのに関与している酵素の BACE の C-末端領域と GGA1 の VHS ドメインの認識機構を明らかにした。	
GGA1-VHS / BACE-P complex	IUIK	Released	2004/5/11	アルツハイマー病の原因とされている β -アミロイド(A β)を産生するのに関与している酵素のリン酸化 BACE の C-末端領域と GGA1 の VHS ドメインの認識機構を明らかにした。	
GlcAT-P	IV82	Released	2004/5/25	HNK-1 糖鎖抗原は、神経系に存在する細胞接着因子や糖脂質に特徴的に発現し、神経系で重要な役割を果たしている。HNK-1 糖鎖の生合成に必須なグルクロン酸転移酵素 GlcAT-P の X 線結晶構造を明らかにした。	
GlcAT-P / Mn, UDP complex	IV83	Released	2004/5/25	GlcAT-P とドナー基質複合体の立体構造を決定した。これにより、ドナー基質との相互作用様式は他の糖転移酵素と保存されている事が明らかになった。	
GlcAT-P / Mn, UDP N-acetyllactosamine complex	IV84	Released	2004/5/25	GlcAT-P とドナー基質および受容体基質複合体の立体構造を決定した。これにより、受容体基質の基質特異性がどのように決定されているかを明らかにした。	
Neu2	ISNT	Released	2004/11/2	哺乳類由来のものとして初めてのヒト由来シアリ	

						ダーゼの立体構造を明らかにした	
Neu2 / maltose complex	ISO7	Released	2004/11/2			ヒト由来シアリダーゼ Neu2 に糖が結合する事によって、その一部の構造が変化する事を初めて示した。	
Neu2 / DANA complex	1VCU	Released	2004/11/2			ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と基質アナログとの複合体の立体構造を決定し、基質認識がどのように行われているかを原子レベルで詳細に明らかにした。	
GGA3-GAT / Ubiquitin complex	1WR6	Released	2005/6/28			細胞内輸送で重要な役割を果たす新奇アダプタータンパク質 GGA3 とユビキチンタンパク質の結合様式を原子レベルで詳細に明らかにした。	
Tom1-GAT / Ubiquitin complex	1WRD	Released	2005/10/11			細胞内輸送に働くと考えられている Tom1 タンパク質とユビキチンタンパク質の結合様式を原子レベルで詳細に明らかにし、上記 GGA3 との比較から細胞内輸送とユビキチンタンパク質の働きの一般性についての重要な知見を与えた。	
Hrs-UIM / Ubiquitin complex	1WMC 2D3G	Released (再 取得)	2005/12/20			細胞内輸送に働くと考えられている Hrs タンパク質とユビキチンタンパク質の結合様式を原子レベルで詳細に明らかにし、アクセサリタンパク質とは異なる局面の細胞内輸送で、ユビキチンタンパク質の果たす機能についての重要な知見を与えた。	
GGA1-GAE	1X2C 2DWY	Released (再 取得)	2007/4/17			GGA1 の C 末端の GAE ドメインの構造を解明し、AP1 複合体の year ドメインと立体構造が極めて似ていることを明らかにした。	
GGA1-GAE/peptide1	1X2D 2DWX	Released (再 取得)	2007/4/17			GGA1 の GAE ドメインが GGA1 自信のヒンジ領域と結合して自己阻害が起こることを明らかにし、そ	

GlcAT-S	2D0J	Released	2006/7/18	の相互作用機構を解明した。 神経系に存在する細胞接着因子や糖脂質に特徴的に発現する HNK-1 糖鎖の生成に必須なグルクロン酸転移酵素 GlcAT-S の X 線結晶構造を明らかにし、基質特異性の分子基盤を解明した。	
Emp46-K-complex	2A6V	Released	2006/1/31	糖タンパク質輸送レクチン Emp46p の糖鎖認識ドメインのカリウム結合型の構造を明らかにした。同様の機能を担う ERGIC-53 とは異なり、新しいカルシウム非依存性の糖タンパク質輸送レクチンであることが明らかになった。	
Emp46	2A6W	Released	2006/1/31	Emp46p の糖鎖認識ドメインの金属非結合型の構造を明らかにした。Emp46p のカリウム結合型と比較して、若干の構造変化が起こることが明らかになった。	
Emp46-Y131F	2A6X	Released	2006/1/31	Emp46p の糖鎖認識ドメインのカリウム非結合変異体の構造を明らかにした。Y131F 変異によりカリウムが結合できないことを X 線結晶構造解析により明らかにした。	
Emp47	2A6Z, 2A6Y, 2A70, 2A71	Released	2006/1/31	糖タンパク質輸送レクチン Emp47p の糖鎖認識ドメインの金属非結合型の構造を明らかにした。同様の機能を担う ERGIC-53 とは異なり、新しいカルシウム非依存性の糖タンパク質輸送レクチンであることが明らかになった。	
mouse galectin-9 N-terminal CRD	2D6K, 2D6L	Released	2006/09/26	マウスガレクチン9は免疫細胞である TH1 細胞にアポトーシスを誘導する活性があり、N 末端ドメイ	

					ンの立体構造は免疫応答のメカニズムに対して重要な知見を与えた。	
mouse galectin-9 N-terminal CRD / lactose complex	2D6M	Released	2006/09/26		マウスガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインとラクトースとの複合体の構造解析を行い、糖鎖認識のメカニズムを詳細に明らかにした。	
mouse galectin-9 N-terminal CRD / N-acetyllactosamine complex	2D6N	Released	2006/09/26		マウスガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインと生体内リガンドと考えられているラクトサミンとの複合体の構造解析を行い、糖鎖認識のメカニズムを詳細に明らかにした。	
mouse galectin-9 N-terminal CRD / N-acetyllactosamine dimer (LN2) complex	2D6O	Released	2006/09/26		マウスガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインとラクトサミン二量体との複合体の構造解析を行い、協同的な糖鎖認識という新規認識メカニズムが明らかになった。	
mouse galectin-9 N-terminal CRD / T-antigen complex	2D6P	Released	2006/09/26		マウスガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインと T 抗原との複合体の構造解析を行い、O 結合型糖鎖への生体内での結合の可能性を与える知見を得た。	
AfcA Fucosidase (apo form)	2D79 2EAB	Released (再取得)	2007/04/24		ピオフィウス菌由来の新規フコシダーゼは $\alpha 1, 2$ 結合を特異的に切断することから工業的に高い応用の可能性が見込まれている。AfcA フコシダーゼの立体構造は基質認識のメカニズムについて重要な知見を与えた。	
AfcA fucosidase DFJ-form	2EAC	Released	2007/04/24		AfcA フコシダーゼと阻害剤との複合体の立体構造は阻害剤の認識メカニズムについて重要な知見を与えた。	
AfcA fucosidase 2'FL-form	2EAD	Released	2007/04/24		AfcA フコシダーゼと基質との複合体の立体構造は	

						反応機構について重要な知見を与えた。	
AfcA fucosidase fuc-lac-form	2EAE	Released	2007/04/24			AfcA フコシダーゼと分解産物との複合体の立体構造は基質との複合体の構造と組み合わせることにより詳細な反応機構に関する知識を得ることができた。	
PGRP-Lca	1Z6I	Released	2005/7/19			シヨウジョウバエの自然免疫系に関わるタンパク質 PGRP-LC の結晶構造を決定し、ターゲットであるペプチドグリカン認識の分子機構を明らかにした。	
FIP3 / Rab11 complex	2D7C	Released	2006/9/26			ARF5/ARF6 と Rab11 という機能の異なる 2 種類の GTPase と結合し、細胞分裂時の細胞膜の供給に重要な働きをする FIP3 と Rab11 の複合体の構造解析に成功し、その機能の構造的基盤を与えた。	
RNA polymerase holoenzyme	2A6E	Released	2005/9/20			RNA ポリメラーゼは、タンパク質合成の第 1 段階である転写反応を担っている重要な酵素である。好熱菌由来 RNA ポリメラーゼホロ酵素 (RNA ポリメラーゼのコア酵素に転写開始因子が結合したもの) の立体構造解析に成功し、複合体研究に利用できるようになった。	
RNA polymerase holoenzyme / rifabutin complex	2A68	Released	2005/9/20			上記 RNA ポリメラーゼホロ酵素と、RNA ポリメラーゼを阻害する抗生物質リファマイシンの誘導体であるリファブチンとの複合体構造を明らかにし、新しい阻害機構モデルを提唱することができた。	
RNA polymerase holoenzyme / rifampentin complex	2A69	Released	2005/9/20			上記 RNA ポリメラーゼホロ酵素と、RNA ポリメラーゼを阻害する抗生物質リファマイシンの誘導体	

					であるリファペンチンとの複合体構造を明らかにし、新しい阻害機構モデルを提唱することができた。	
RNA polymerase holoenzyme / Sterptolydigin complex	2A6H	Released	2005/9/20		上記 RNA ポリメラーゼホロ酵素と、RNA ポリメラーゼを阻害する抗生物質 Streptolydigin との複合体構造を決定した。この阻害機構は上記リファマイシンと異なることを明らかにした。	
RNA polymerase holoenzyme/ tagetitoxin complex	2BE5	Released	2005/11/8		上記 RNA ポリメラーゼホロ酵素と、枯草剤である tagetitoxin との複合体構造を決定した。それにより、tagetitoxin はマグネシウムイオンとともに RNA ポシメラーゼに結合し、転写反応中間体を安定化させることにより転写を阻害することを明らかにした。	
Eap45-GLUE domain / Ubiquitin complex	2DX5	Released	2006/10/10		ESCRT 複合体は、ユビキチン化された受容体のエンドソーム輸送に関与し、その輸送機構は HIV ウイルスの出芽にも利用される。ESCRT 複合体の中で、ユビキチンとの相互作用様式が最後まで謎であった哺乳類の ESCRT II 複合体について、その認識機構を解明した。	
Neu2 / zanamivir	2F0Z	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と阻害剤の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を原子レベルで明らかにした。	
Neu2 / peramivir	2F10	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と阻害剤の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を原子レベルで明らかにした。	
Neu2 / IEM	2F11	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と阻害剤の立体構造を	

					決定し、阻害剤の作用機構を原子レベルで明らかにした。	
Neu2 / HEM	2F12	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と阻害剤の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を原子レベルで明らかにした。	
Neu2 / DEM	2F13	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 と阻害剤の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を原子レベルで明らかにした。	
Neu2-E111Q	2F24	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	
Neu2-E111Q / DANA	2F25	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体と阻害剤の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	
Neu2-E111Q-Q112E	2F26	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	
Neu2-E111Q-Q112E / DANA	2F27	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	
Neu2-Q116E	2F28	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	
Neu2-Q116E / DANA	2F29	Released	2006/11/21		ヒト由来シアリダーゼ Neu2 の基質認識部位変異体の立体構造を決定し、阻害剤の作用機構を詳細に明らかにした。	

					らかにした。	
B1-215 Rab27b (Q78L) GDP	2IEZ	Released	2007/5/1		小胞輸送制御に関わる Rab27b タンパク質の立体構造を決定し、ヌクレオチド交換と構造との関連についての分子基盤を明らかにした。	
B1-198 Rab27b (Q78L) GDP	2IF0	Released	2007/5/1		小胞輸送制御に関わる Rab27b タンパク質の立体構造を決定し、ヌクレオチド交換と構造との関連についての分子基盤を明らかにした。異なるコンストラクトで高分解能データを取得。	
B1-193 Rab27b (Q78L) GDP	2IEY	Released	2007/5/1		小胞輸送制御に関わる Rab27b タンパク質の立体構造を決定し、ヌクレオチド交換と構造との関連についての分子基盤を明らかにした。異なるコンストラクトで高分解能データを取得。	
CERT START domain (apo-form)	2D6V 2E3M	on hold (再取得)			セラミド選別輸送タンパク質 CERT の脂質輸送ドメイン (START ドメイン) の立体構造を決定し、生体膜中に存在する脂質セラミドを特異的に認識、タンパク質内部に取り込み、輸送する機構について重要な知見を与えた。	
CERT START domain, complex with C ₆ -ceramide	2D6Q 2E3N	on hold (再取得)			CERT START ドメインと C ₆ -セラミドの複合体構造を決定し、アポ体(2E3M)との比較から、セラミドを特異的に認識する機構を明らかにした。	
CERT START domain, complex with C ₁₆ -ceramide	2D6R , 2D6S 2E3O, 2E3P	on hold (再取得)			CERT START ドメインと C ₁₆ -セラミドの複合体構造を決定し、セラミド認識機構を明らかにした。C ₁₆ -セラミドはアミドアシル鎖の炭素鎖長 16 のセラミドであり、生体内脂質セラミドの大部分を占める。また、空間群の異なる 2 種類の結晶構造を登録した。	

CERT START domain, complex with C ₁₈ -ceramide	2D6T, 2D6U, 2E3Q, 2E3R	on hold (再取得)		CERT START ドメインと C ₁₈ -セラミドの複合体構造を決定し、セラミド認識機構を明らかにした。C ₁₈ -セラミドはアミドアシル鎖の炭素鎖長 18 のセラミドであり、脳、神経細胞に多く分布する。また、空間群の異なる 2 種類の結晶構造を登録した。	
CERT START domain, co-crystallized with C ₂₄ -ceramide	2D6W 2E3S	on hold (再取得)		CERT START ドメインと C ₂₄ -セラミドの共結晶化・構造決定を行い、CERT がセラミドのアミドアシル炭素鎖の長さを認識する機構について重要な知見を得ることが出来た。	
E. coli thioredoxin mutant 11P	2D6A 2E1O	on hold (再取得)		チオレドキシンのダイマー間に人工的に導入した S-S 結合が、蛋白の安定性を高め結晶化に良い影響を与える事が判明した。	
E. coli thioredoxin mutant 6P	2D6D 2E1Q	on hold (再取得)		チオレドキシンのダイマー間に人工的に導入した S-S 結合が、蛋白の安定性を高め結晶化に良い影響を与える事が判明した。	
E. coli thioredoxin mutant 12P	2D6E 2E1R	on hold (再取得)		チオレドキシンのダイマー間に人工的に導入した S-S 結合が、蛋白の安定性を高め結晶化に良い影響を与える事が判明した。	
VIP36+stalk metal-free	2DUP	on hold		糖タンパク質輸送レクチン VIP36 の糖鎖認識ドメインの金属非結合型の構造を明らかにした。カルシウム結合型と比較して、糖鎖認識部位の構造変化が起こることを明らかにした。	
VIP36+stalk Ca ²⁺ -bound	2DUO	on hold		VIP36 の糖鎖認識ドメインのカルシウム結合型の構造を明らかにした。カルシウム結合に関わるアミノ酸残基は、糖鎖リガンドとの結合にも関わっており	

					り、VIP36 がカルシウム依存性の糖タンパク質輸送レクチンであることを原子レベルで詳細に明らかにした。	
VIP36+stalk Ca ²⁺ /Man-bound	2DUQ	on hold			VIP36 の糖鎖認識ドメインのカルシウム・マンノース結合型の構造を明らかにした。高マンノース型糖タンパク質を輸送するレクチンとして、初めて糖鎖との複合体の構造解析に成功した。	
VIP36+stalk Ca ²⁺ /Man ₂ -bound	2DUR	on hold			VIP36 の糖鎖認識ドメインのカルシウム・マンノビオース結合型の構造を明らかにし、基質認識がどのように行われているかを原子レベルで詳細に明らかにした。	
VIP36+stalk Ca ²⁺ /Man ₃ GlcNAc-bound	2E6V	on hold			VIP36 の糖鎖認識ドメインのカルシウム・Man ₃ GlcNAc 結合型の構造を明らかにし、基質認識がどのように行われているかを原子レベルで詳細に明らかにした。	
Ara7 and AtVps9a,GDP-NH2	2EFE	on hold			シロイヌナズナ由来低分子量 GTPase である Ara7 とそのグアニンヌクレオチド交換因子である AtVps9a、及び GDP アナログである GDPNH ₂ の複合体結晶構造を始めて決定。	
Ara7 and AtVps9a,GDP	2EFD	on hold			シロイヌナズナ由来低分子量 GTPase である Ara7 とそのグアニンヌクレオチド交換因子である AtVps9a、及び GDP の複合体結晶構造を始めて決定。	
Ara7 and AtVps9a(D185N),GDP	2EFH	on hold			シロイヌナズナ由来低分子量 GTPase である Ara7 とそのグアニンヌクレオチド交換因子である AtVps9a の D185N 変異体、及び GDP の複合体結晶構造を始	

Ara7 and AtVps9a, free form	2EFC	on hold		めて決定。 シロイヌナズナ由来低分子量 GTPase である Ara7 とそのグアニンヌクレオチド交換因子である AtVps9a の複合体結晶構造を始めて決定。	
human NCRD lactose-form	2EAK	on hold		ヒト由来のガレクチン9 はマウス由来のものとは異なる経緯を経て発見され、アミノ酸配列からも機能的に異なる可能性が示唆されていた。ヒト由来ガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインとラクトースとの複合体の立体構造はマウス由来の構造とは明らかに差異が認められこれら二つの蛋白質が異なる機能を持つという知見を得ることができた。	
human NCRD Forssman-form	2EAL	on hold		ヒト由来ガレクチン9 は Forssman 抗原に対してマウス由来のものよりも100倍程度高い親和性で結合する。ヒト由来ガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインと Forssman 抗原との複合体の立体構造はこの高親和性が蛋白質表面の保存されていないアミノ酸に寄与していることを明らかにした。	
human NCRD LN2	2EAG 2EAH	on hold		ヒトガレクチン9 は生体内でラクトサミン重合体をリガンドとして持つと推測されている。ヒトガレクチン9 N 末端糖鎖認識ドメインとラクトサミン二量体との複合体の立体構造は、ヒトガレクチン9 とラクトサミンとの認識メカニズムに関する詳細な知見を与えた。	
human NCRD LN3	2EAI 2EAJ	on hold		ヒトガレクチン9 は生体内でラクトサミン重合体をリガンドとして持つと推測されている。ヒトガレ	

					クチン9N末端糖鎖認識ドメインとラクトサミン三量体との複合体の立体構造は、ヒトガレクチン9がラクトサミンと Endo 型と呼ばれる結合様式で認識しているという知見を与えた。	
AfcA fucosidase DFJ-lac-form	2EAF	on hold			AfcA フコシダーゼは分解産物により活性が阻害されない。しかし少量の阻害剤の存在下では分解産物により強く阻害される。AfcA フコシダーゼと分解産物、阻害剤の三者複合体の立体構造はこの協調的な阻害メカニズムに関して原子レベルで詳細な知見を与えた。	
FUT8	2DE0	Released	2006/12/26		Human α 1,6-fucosyltransferase. アスパラギン結合型糖鎖のコアFコース生成を行う糖転移酵素であり、抗体や増殖因子受容体の機能調節を行う。Fコース転移酵素としては世界初。	
pp-GalNAc-T10	2D7I	Released	2006/11/7		ムチン型 O-グリカンは癌でその構造が大きく変化する事が知られており、癌の悪性度と強く関連している。ムチン型 O-グリカンの根元の GalNAc- α -O-Ser/Thr 構造を合成する酵素で、ムチン型 O-グリカンの付加位置を決定している。得られた構造から、この酵素は基質結合に際して大きな構造変化を起こし、基質を活性化することが示唆された。	
pp-GalNAc-T10 GalNAc-Ser 複合体	2D7R	Released	2006/11/7		上の酵素と基質の一部である GalNAc-Ser との複合体結晶。糖ペプチドが酵素のレクチンドメインに結	

					合することを具体的に示した。この基質認識部位と活性中心の距離情報から、GalNAc 付加位置の特異性を説明することが出来た。	
Luciferase	2D1Q 2DIR 2D1S 2D1T	Released	2006/3/21		Luciferase はホタルが発光を行う際に必須のタンパク質であり、発光反応に重要なアミノ酸残基を世界で初めて決定した。また Luciferase はアミノ酸を 1 残基変異させるだけで発光色が黄緑色から赤色に変化する性質を持っており、その発光色を決定する機構についても明らかにした。さらに Luciferase は発光の量子収率が約 90%と言われており、エネルギー効率のよい発光システムの構築に役立つ可能性がある。	
PsbP	1V2B	Released	2004/5/18		PsbP は植物が光合成を行う中で、水分解—酸素発生反応を最適化するために必要である。この立体構造は真核生物の細胞核への輸送や細胞分裂に関わる Ran-GTPase との結合タンパク質である Mog1p と非常に良く似ていた。光化学系 II における D1 タンパク質の分解—再構成過程に GTP が重要であり、その際、さらに PsbO というタンパク質が GTP と結合することから、PsbP が Mog1p と同じような働きを高等植物において行う可能性が示唆された。	
KaiA	1V2Z	Released	2004/5/1		生物が 24 時間の周期を保つために必須のタンパク質であり、そのリズム発振機能に重要な His 残基を世界で初めて明らかにした。またこの立体構造は構造学的には新規なものであった。この立体構造の決	

					定は生物時計の分子機構を明らかにしていく足掛かりであり、これからの不眠治療などにも役立つ可能性がある。	
Calmodulin : Myristoylated Cap-23/Nap-22 Peptide complex	1L7Z	Released	2003/9/13		蛋白質翻訳後修飾の一つであるミリスチル化が蛋白質の分子認識に直接関わっていることを世界で初めて構造レベルで明らかにしたものである。ミリスチル化蛋白質はウイルス蛋白質や癌遺伝子産物に多く見られることから、今回の構造は抗ウイルス薬や抗がん剤の開発にも役立つ可能性がある。	
PPDK	1VBG, 1VBH	Released	2005/3/8		PPDK は ATP を用いてピルビン酸からホスホエノールピルビン酸 (PEP) を合成する酵素で、酵素自身がリン酸化された中間体を経由する。この立体構造では、これまで得られていた PPDK とは異なるコンフォメーション、すなわち、リン酸化ドメインの位置が異なっていたことから、反応に必要とされていたリン酸化ドメインの回転機構を構造的に証明できた。また、PEP との複合体結晶から PEP 結合部位を決定するとともに、PEP の結合がドメインの動きを誘引することが示唆された。	
tRNA ^{lle} リシジン合成酵素	1WYS	Released	2005/4/5		本酵素は tRNA のアンチコドン 1 字目にリジンを結合する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り、細菌に特異的なため、有効な抗生物質の開発に応用される。	

メチオニル tRNA 合成酵素・ tRNA ^{Met} _m 複合体およびメチオニル tRNA 合成酵素・tRNA ^{Met} _m ・Met-AMS 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。	住友化学
TusBCD (tRNA のチオ化にかかわる複合体)	2DIP	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。	
MmmA-tRNA(Glu)複合体	2DER, 2DET,2D EU	Released	2006/7	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。	
GatDE/tRNA(Gln) 複合体	2D6F	Released	2006/6	本酵素は Glu-tRNA(Gln)のグルタミン酸部位をグルタミンに変換する酵素である。	
DAAM1 FH2	2H82	on hold		本タンパク質は Rho 依存的にアクチンの重合を促進する因子である。	
Sec2pGEF ドメイン	2E7S	Released	2007/2	本タンパク質は Sec4p (Rab GTPase) の活性化を行う因子である。	
Sec2pGEF ドメイン-Sec4p 複合体	2EQD	on hold		本タンパク質複合体は Sec4p (Rab GTPase) の活性化を行う因子 Sec2p と Sec4p との複合体である。	
Ataxin-3 Josephin domain	2DOS	on hold		マシヤド・ジヨセフ病の原因遺伝子産物・ataxin-3 の脱ユビキチン活性の発現メカニズムの一端が明らかとなった。神経変性疾患の発症メカニズムに着	

curculin1 homodimer	2DPF	on hold		目した治療薬の設計指針を与える。 クルクリンの X 線結晶構造解析と一連の部位特異変異実験により、味覚修飾活性の発現に重要な残基を特定することに成功した。本成果は、様々な味覚研究の分野に大きく貢献する。	味覚修飾タンパク質をベースとした新規甘味料の分子デザインにより、ダイエットのニーズに答えるための機能性食品の開発と、糖尿病患者への適用や味覚障害者の Quality of Life の向上をめざしている。
Parkin Ubiquitin-like domain	1IYF	Released	2003/3/25	Parkin は、家族性パーキンソン病の原因遺伝子産物であり、その基質候補として O 型糖鎖の修飾を受けた α -synuclein が提唱されている。Parkin の ubiquitin-like domain の三次元構造決定を NMR により行った。さらに、parkin のユビキチン様ドメインは、プロテアソームの構成サブユニットである Rpn10 と特異的に結合することをはじめて明らかにし、parkin が基質蛋白質を効率よくプロテアソームへ輸送していることが考えられた。	
PDI b' domain	1V52 (精密化後 2DJJK)	1V52; Released 2DJJK Released	2005/6/28 2006/4/25	PDI の立体構造は、小胞体における蛋白質の品質管理メカニズムを解明するうえで有用な知見を与えらる。さらに本研究で用いた好熱カビ由来の PDI は耐熱性・長期安定性に優れていることから、その立体構造情報はタンパク質のリフォールディングを工業的レベルで効率よく行うための技術開発の基礎となる。	豊田中研

PDI a' domain	1XTX (精密化 後 2DJJ)	1XTX Released 2DJJ Released	2006/1/31 2006/4/25	PDIの立体構造は、小胞体における蛋白質の品質管理メカニズムを解明するうえで有用な知見を与える。さらに本研究で用いた好熱カビ由来のPDIは耐熱性・長期安定性に優れていることから、その立体構造情報はタンパク質のリフォールディングを工業的レベルで効率よく行うための技術開発の基礎となる。	豊田中研
Ufm-1	1WXS	Released	2006/4/18	Ufm-1は、NEDD8やSUMOといった他のユビキチン様タンパク質と同様に標的となるタンパク質と結合する新規 modifier である。本研究ではUfm-1がユビキチンフォールドをしたタンパク質であることをNMRにより明らかとし、Ufm-1の修飾メカニズムについて議論する基盤を整えた。	
Peptide:N-glycanase PUB domain	2D5U	Released	2006/11/21	PNGaseは細胞質においてN結合型糖鎖を遊離させる酵素として機能している。N末端領域に存在するPUBドメインは小胞体関連分解(ERAD)に関与するタンパク質(ユビキチン、19SプロテアソームサブユニットS4など)と相互作用することが報告されており、PUBドメインの立体構造は、糖タンパク質分解のメカニズムを明らかにする上で重要である。	
キチナーゼC	1WVU	Released	2005/12/27	ファミリー19キチナーゼで初めて立体構造が明らかとなった、マルチドメイン蛋白質である。	
キチナーゼC	1WVV	Released	2005/12/27	1WVUが野生型であるのに対し、こちらは触媒残基の変異体であり、より分解能が高い。	
キチナーゼC	2DBT	Released	2006/3/28	活性中心にHEPESが結合しており、これを基質類似体と見なすことで、立体構造の点から初めて触媒残基を同定することができた。	
イネキチナーゼ Cht2	2DKV	Released	2007/5/1	キチン吸着ドメインと触媒ドメインとを結び柔軟なリンカーが、抗菌活性の発現に重要であることが	

					分かった。	
ヒト由来がん細胞運動刺激因子 (hAMF)・阻害剤フリー	IJIQ	Released	2002/6/19		AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得る。AMF と種々の阻害剤複合体の立体構造情報は、がん転移抑制剤のデザインに有用な情報を与える。特に、「ヒト」由来蛋白質の立体構造は、化合物デザインに必須である。	
hAMF・E4P 複合体	IIRJ	Released	2002/6/5		上記ヒト AMF と阻害剤エリスロス4リン酸(E4P)との複合体の構造解析により、阻害剤結合部位を明らかにした。	
ホルムアルデヒド脱水素酵素	IKOL	Released	2002/12/11		<i>Pseudomonas putida</i> 由来ホルムアルデヒド脱水素酵素は、腎機能を評価のための臨床検査用酵素（東洋紡より市販）である。立体構造情報に基づき、臨床検査薬としての機能向上が可能である。	
マラリア原虫由来 S-アデノシルホモシステイン加水分解酵素・反応生成物複合体	IV8B	Released	2004/10/26		本酵素は、マラリア原虫の成育に必須の酵素である。しかし、ヒトの体内にもこの酵素が存在する。種選択的阻害剤デザインのためには、マラリア原虫由来酵素の立体構造情報が不可欠である。	
ヒト由来インターフェロン誘導型リボヌクレアーゼ L・活性化因子 (2-5A) 複合体	IWDY	Released	2004/10/5		インターフェロン (IFN) により誘導されるリボヌクレアーゼ L (RNase L) は、IFN による抗ウイルス機構主要酵素の一つである。生体内で安定な 2-5A 類似化合物は、RNase L を活性化するという作用機構の抗ウイルス薬となりうる。	
ヒト由来 2',3'-環状化ヌクレオチド	IWOJ	Released	2005/3/15		ヒト脳に局在し神経性疾患への関与が示唆されて	

ホスホジエステラーゼ活性フラグメント					いる本酵素の立体構造を解明し、反応機構を提唱した。興味深いことに、本酵素の反応機構は構造上全く類似性の無いリボヌクレアーゼ A と同様のものであると推定される。	
マウス由来がん細胞運動刺激因子 (mAMF)・阻害剤フリー	2CVP	Released	2006/5/23		AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得るため、AMF と種々の阻害剤との立体構造解析を行うことは、がん転移抑制剤のリード化合物のデザインに有用な情報を与えるものである。	
mAMF・リン酸複合体	2CXN	Released	2006/5/23		mAMF / リン酸イオン複合体の立体構造から、リン酸基結合部位を同定した。	
mAMF・E4P 複合体	2CXO	Released	2006/5/23		mAMF / エリスロース 4 リン酸 (E4P) 複合体の構造から、阻害剤である E4P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・A5P 複合体	2CXP	Released	2006/5/23		mAMF / アラビノース 5 リン酸 (A5P) 複合体の構造から、阻害剤である A5P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・S6P 複合体	2CXQ	Released	2006/5/23		mAMF / ソルビトール 6 リン酸 (S6P) 複合体の構造から、阻害剤である S6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・6PGA 複合体	2CXR	Released	2006/5/23		mAMF / 6 ホスホグルコン酸 (6PGA) 複合体の構造から、阻害剤である 6PGA の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・F6P 複合体	2CXS	Released	2006/05/23		mAMF / フルクトース 6 リン酸 (F6P) 複合体の構造から、阻害剤である F6P の認識機構を解明し、新	

						規阻害剤をデザインするための知見を得た。
mAMF・G6P 複合体	2CXT	Released	2006/05/23			mAMF / グルコース 6 リン酸 (G6P) 複合体の構造から、阻害剤である G6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。
mAMF・M6P 複合体	2CXU	Released	2006/5/23			mAMF / マルトース 6 リン酸 (M6P) 複合体の構造から、阻害剤である M6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。
酵母由来チロシル tRNA 合成酵素・tRNA・基質アナログ複合体	2DLC	on hold				チロシル tRNA 合成酵素と tRNA との複合体の真核生物としては最初の解析例であり、原核生物由来システムとの違いを明確にしたことにより、非天然アミノ酸の導入実験に有用な知見が得られた。
ブタ由来ペルオキシソーム局在型カルボニル還元酵素・NADPH 複合体	2DYE	on hold				本酵素は、ペルオキシソームに局在し各種カルボニル化合物の代謝に関与する。本酵素の PTS1 は分子内に埋もれていることが明らかとなり、4 量体形成とペルオキシソーム輸送の構造的基盤が解明された。
ヒト由来がん細胞運動刺激因子 (hAMF)・阻害剤フリー	1JIQ	Released	2002/6/19			AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得る。AMF と種々の阻害剤複合体の立体構造情報は、がん転移抑制剤のデザインに有用な情報を与える。特に、「ヒト」由来蛋白質の立体構造は、化合物デザインに必須である。
hAMF・E4P 複合体	1IRI	Released	2002/6/5			上記ヒト AMF と阻害剤エリシロス 4 リン酸 (E4P) との複合体の構造解析により、阻害剤結合部位を明らかにした。

ホルムアルデヒド脱水素酵素	IKOL	Released	2002/12/11	<i>Pseudomonas putida</i> 由来ホルムアルデヒド脱水素酵素は、腎機能の評価のための臨床検査用酵素（東洋紡より市販）である。立体構造情報に基づき、臨床検査薬としての機能向上が可能である。	
マラリア原虫由来 S-アデノシルホモシステイン加水分解酵素・反応生成物複合体	1V8B	Released	2004/10/26	本酵素は、マラリア原虫の成育に必須の酵素である。しかし、ヒトの体内にもこの酵素が存在する。種選択的阻害剤デザインのためには、マラリア原虫由来酵素の立体構造情報が不可欠である。	
ヒト由来インターフェロン誘導型リボヌクレアーゼ L・活性化因子 (2-5A) 複合体	1WDY	Released	2004/10/5	インターフェロン (IFN) により誘導されるリボヌクレアーゼ L (RNase L) は、IFN による抗ウイルス機構主要酵素の一つである。生体内で安定な 2-5A 類似化合物は、RNase L を活性化するという作用機構の抗ウイルス薬となりうる。	
ヒト由来 2',3'-環状化ヌクレオチドホスホジエステラーゼ活性フラグメント	1WOJ	Released	2005/3/15	ヒト脳に局在し神経性疾患への関与が示唆されている本酵素の立体構造を解明し、反応機構を提唱した。興味深いことに、本酵素の反応機構は構造上全く類似性の無いリボヌクレアーゼ A と同様のものであると推定される。	
マウス由来がん細胞運動刺激因子 (mAMF)・阻害剤フリー	2CVP	Released	2006/5/23	AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得るため、AMF と種々の阻害剤との立体構造解析を行うことは、がん転移抑制剤のリード化合物のデザインに有用な情報を与えるものである。	
mAMF・リン酸複合体	2CXN	Released	2006/5/23	mAMF / リン酸イオン複合体の立体構造から、リン酸基結合部位を同定した。	

mAMF・E4P 複合体	2CXO	Released	2006/5/23	mAMF / エリスロース 4 リン酸 (E4P) 複合体の構造から、阻害剤である E4P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・A5P 複合体	2CXP	Released	2006/5/23	mAMF / アラビノース 5 リン酸 (A5P) 複合体の構造から、阻害剤である A5P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・S6P 複合体	2CXQ	Released	2006/5/23	mAMF / ソルビトール 6 リン酸 (S6P) 複合体の構造から、阻害剤である S6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・6PGA 複合体	2CXR	Released	2006/5/23	mAMF / 6 ホスホグルコン酸 (6PGA) 複合体の構造から、阻害剤である 6PGA の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・F6P 複合体	2CXS	Released	2006/5/23	mAMF / フルクトース 6 リン酸 (F6P) 複合体の構造から、阻害剤である F6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・G6P 複合体	2CXT	Released	2006/5/23	mAMF / グルコース 6 リン酸 (G6P) 複合体の構造から、阻害剤である G6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・M6P 複合体	2CXU	Released	2006/5/23	mAMF / マルトース 6 リン酸 (M6P) 複合体の構造から、阻害剤である M6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
酵母由来チロシル tRNA 合成酵素・tRNA・基質アナログ複合体	2DLC	on hold		チロシル tRNA 合成酵素と tRNA との複合体の真核生物としては最初の解析例であり、原核生物由来システムとの違いを明確にしたことにより、非天然アミノ酸の導入実験に有用な知見が得られた。	

ブタ由来ペルオキシソーム局在型カルボニル還元酵素・NADPH 複合体	2DYE	on hold		本酵素は、ペルオキシソームに局在し各種カルボニル化合物の代謝に関与する。本酵素の PTS1 は分子内に埋もれていることが明らかとなり、4 量体形成とペルオキシソーム輸送の構造的基盤が解明された。	
ヒト由来がん細胞運動刺激因子 (hAMF)・阻害剤フリー	1JIQ	Released	2002/6/19	AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得る。AMF と種々の阻害剤複合体の立体構造情報は、がん転移抑制剤のデザインに有用な情報を与える。特に、「ヒト」由来蛋白質の立体構造は、化合物デザインに必須である。	
hAMF・E4P 複合体	1IRI	Released	2002/6/5	上記ヒト AMF と阻害剤エリロス羅斯4リン酸 (E4P) との複合体の構造解析により、阻害剤結合部位を明らかにした。	
ホルムアルデヒド脱水素酵素	1KOL	Released	2002/12/11	<i>Pseudomonas putida</i> 由来ホルムアルデヒド脱水素酵素は、腎機能を評価のための臨床検査用酵素（東洋紡より市販）である。立体構造情報に基づき、臨床検査薬としての機能向上が可能である。	
マラリア原虫由来 S-アデノシルホモシステイン加水分解酵素・反応生成物複合体	1V8B	Released	2004/10/26	本酵素は、マラリア原虫の成育に必須の酵素である。しかし、ヒトの体内にもこの酵素が存在する。種選択的阻害剤デザインのためには、マラリア原虫由来酵素の立体構造情報が不可欠である。	
ヒト由来インターフェロン誘導型リボヌクレアーゼ L・活性化因子 (2-5A) 複合体	1WDY	Released	2004/10/5	インターフェロン (IFN) により誘導されるリボヌクレアーゼ L (RNase L) は、IFN による抗ウイルス機構主要酵素の一つである。生体内で安定な 2-5A	

					類似化合物は、RNase L を活性化するという作用機構の抗ウイルス薬となりうる。	
ヒト由来 2',3'-環状化ヌクレオチドホスホジエステラーゼ活性フラグメント	IWOJ	Released	2005/3/15		ヒト脳に局在し神経性疾患への関与が示唆されている本酵素の立体構造を解明し、反応機構を提唱した。興味深いことに、本酵素の反応機構は構造上全く類似性の無いリボヌクレアーゼ A と同様のものであると推定される。	
マウス由来がん細胞運動刺激因子 (mAMF)・阻害剤フリー	2CVP	Released	2006/5/23		AMF は、腫瘍細胞の運動能を刺激する蛋白質である。AMF 阻害剤はがん転移抑制剤と成り得るため、AMF と種々の阻害剤との立体構造解析を行うことは、がん転移抑制剤のリード化合物のデザインに有用な情報を与えるものである。	
mAMF・リン酸複合体	2CXN	Released	2006/5/23		mAMF / リン酸イオン複合体の立体構造から、リン酸基結合部位を同定した。	
mAMF・E4P 複合体	2CXO	Released	2006/5/23		mAMF / エリスロース 4 リン酸 (E4P) 複合体の構造から、阻害剤である E4P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・A5P 複合体	2CXP	Released	2006/5/23		mAMF / アラビノース 5 リン酸 (A5P) 複合体の構造から、阻害剤である A5P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・S6P 複合体	2CXQ	Released	2006/5/23		mAMF / ソルビトール 6 リン酸 (S6P) 複合体の構造から、阻害剤である S6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・6PGA 複合体	2CXR	Released	2006/5/23		mAMF / 6 ホスホグルコン酸 (6PGA) 複合体の構造から、阻害剤である 6PGA の認識機構を解明し、新	

					規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・F6P 複合体	2CXS	Released	2006/5/23		mAMF / フルクトース 6 リン酸 (F6P) 複合体の構造から、阻害剤である F6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
mAMF・G6P 複合体	2CXT	Released	2006/5/23		mAMF / グルコース 6 リン酸 (G6P) 複合体の構造から、阻害剤である G6P の認識機構を解明し、新規阻害剤をデザインするための知見を得た。	
酵母由来チロシル tRNA 合成酵素・tRNA・基質アナログ複合体	2DLC	on hold			チロシル tRNA 合成酵素と tRNA との複合体の真核生物としては最初の解析例であり、原核生物由来システムとの違いを明確にしたことにより、非天然アミノ酸の導入実験に有用な知見が得られた。	
ブタ由来ペルオキシソーム局在型カルボニル還元酵素・NADPH 複合体	2DYE	on hold			本酵素は、ペルオキシソームに局在し各種カルボニル化合物の代謝に関与する。本酵素の PTS1 は分子内に埋もれていることが明らかとなり、4 量体形成とペルオキシソーム輸送の構造的基盤が解明された。	
酵母由来チロシル tRNA 合成酵素・tRNA・基質アナログ複合体	2DLC	on hold			チロシル tRNA 合成酵素と tRNA との複合体の真核生物としては最初の解析例であり、原核生物由来システムとの違いを明確にしたことにより、非天然アミノ酸の導入実験に有用な知見が得られた。	
Photoactive yellow protein mutant (R52Q)	2D02	Released	2006/4/4		Photoactive yellow protein は、原核生物から真核生物に至る様々な生物群で、主に情報伝達に関与するドメインとして発見された PAS ドメインのモチーフ蛋白質である。本変異体は、PAS ドメイン活性状態	

					を模倣した構造状態を形成することが、我々の研究から明らかにされており、本構造は、PAS ドメイン活性構造に対する重要な知見を与えた	
APIyear + peptide complex	4U42 4WSK	Withdraw (再取得予定)			AP-1 複合体と GGA1 との相互作用を初めて構造化学的に証明した。	
APIyear + GGA1 hinge peptide tag	4U43 4WSE	Withdraw (再取得予定)			上記 1UI3 の高分解能構造解析。これにより相互作用の様式をより詳細に解明することが出来た。	
APIyear + γ -synergisin peptide tag	4U44 4WSM	Withdraw (再取得予定)			□ 1-ear ドメインとアクセサリータンパク質の複合体の初の構造解析例。上記 1IU2, 1UI3 との比較から、 □ 1-ear 結合モチーフが[F/W] _{xx} Phiモチーフであることを明らかにした。	
galectin-4 C-terminal CRD / lactose complex	2D6Z	Withdraw (再取得予定)			ヒト由来ガレクチン-4 C末端CRDとラクトースとの複合体の立体構造決定し糖鎖認識機構を明らかにした。	
galectin-4 C-terminal CRD / sulfated T-Antigen complex	2D70	Withdraw (再取得予定)			ヒト由来ガレクチン-4のC末端CRDと硫酸化コア1との複合体の立体構造を決定し糖鎖認識機構を明らかにした。	

2. 主要な論文リスト

- Nagae M, Tsuchiya A, Katayama T, Yamamoto K, Wakatsuki S, Kato R. Structural basis on the catalytic reaction mechanism of novel 1,2-alpha-L-fucosidase (AFCA) from *Bifidobacterium bifidum*. *J Biol Chem*. 2007 Apr 25; [Epub ahead of print] PDB ID: 2EAB, 2EAC, 2EAD, 2EAE
- Leonard Chavas, Seiji Torii, Hironari Kamikubo, Masato Kawasaki, Kentaro Ihara, Ryuichi Kato, Mikio Kataoka, Tetsuro Izumi and Soichi Wakatsuki Structure of Rab27b small GTPase shows an unexpected swapped dimer *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. in press, PDB ID: 2IEY, 2IEZ, 2IF0
- Hirano S, Suzuki N, Slagsvold T, Kawasaki M, Trambaiolo D, Kato R, Stenmark H, Wakatsuki S. Structural basis of ubiquitin recognition by mammalian Eap45 GLUE domain. *Nat Struct Mol Biol*. 2006 Nov;13(11):1031-2 PDB ID: 2DX5
- Shiba T, Koga H, Shin HW, Kawasaki M, Kato R, Nakayama K, Wakatsuki S. Structural basis for Rab11-dependent membrane recruitment of a family of Rab11-interacting protein 3 (FIP3)/Arfophilin-1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Oct 17;103(42):15416-21. PDB ID: 2D7C
- Hiraki M, Kato R, Nagai M, Satoh T, Hirano S, Ihara K, Kudo N, Nagae M, Kobayashi M, Inoue M, Uejima T, Oda S, Chavas LM, Akutsu M, Yamada Y, Kawasaki M, Matsugaki N, Igarashi N, Suzuki M, Wakatsuki S. Development of an automated large-scale protein-crystallization and monitoring system for high-throughput protein-structure analyses. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2006 Sep;62(Pt 9):1058-65.
- Hirano S, Kawasaki M, Ura H, Kato R, Raiborg C, Stenmark H, Wakatsuki S. Double-sided ubiquitin binding of Hrs-UIM in endosomal protein sorting. *Nat Struct Mol Biol*. 2006 Mar;13(3):272-7. PDB ID: 2D3G
- Satoh T, Sato K, Kanoh A, Yamashita K, Kato R, Nakano A and Wakatsuki S (2006). Structures of carbohydrate recognition domain of Ca2+-independent cargo receptors Emp46p and Emp47p. *J. Biol. Chem*. 281:10410-10419. PDB ID: 2A6W, 2A6X, 2A6Y, 2A6Z, 2A70, 2A71
- Chavas LM, Tringali C, Fusi P, Venerando B, Tettamanti G, Kato R, Monti E, Wakatsuki S. Crystal structure of the human cytosolic sialidase Neu2. Evidence for the dynamic nature of substrate recognition. *J Biol Chem*. 2005 Jan 7;280(1):469-75. PDB ID: 1SNT, 1SOT, 1VCU

- Kakuda S, Shiba T, Ishiguro M, Tagawa H, Oka S, Kajihara Y, Kawasaki T, Wakatsuki S, Kato R. Structural basis for acceptor substrate recognition of a human glucuronyltransferase, GlcAT-P, an enzyme critical in the biosynthesis of the carbohydrate epitope HNK-1. *J Biol Chem*. 2004 May 21;279(21):22693-703. PDB ID: 1V82, 1V82, 1V84
- Shiba T, Kawasaki M, Takatsu H, Nogi T, Matsugaki N, Igarashi N, Suzuki M, Kato R, Nakayama K, Wakatsuki S. Molecular mechanism of membrane recruitment of GGA by ARF in lysosomal protein transport. *Nat Struct Biol*. 2003 May;10(5):386-93. PDB ID: 1O3X, 1O3Y
- E.Sakata, Y.Yamaguchi, Y.Miyauchi, K.Iwai, T.Chiba, Y.Saeki, N.Matsuda, K.Tanaka and K.Kato, *Nature Struct. Mol. Biol.* 14, 167-168 (2007)
- Mizushima T, Hirao T, Yoshida Y, Lee SJ, Chiba T, Iwai K, Yamaguchi Y, Kato K, Tsukihara T and Tanaka K, *Nature Struct. Mol. Biol.* 11, 365-370 (2004) PDB ID: 1UMH, 1UMI
- Sakata E, Yamaguchi Y, Kurimoto E, Kikuchi J, Yokoyama S, Yamada S, Kawahara H, Yokosawa H, Hattori N, Mizuno Y, Tanaka K and Kato K, *EMBO reports* 4, 301-306 (2003) PDB ID: 1IYF
- Kezuka Y, Ohishi, M, Itoh Y, Watanabe J, Mitsutomi M, Watanabe T, Nonaka T, Structural Studies of a Two-domain Chitinase from *Streptomyces griseus* HUT6037, *J. Mol. Biol.* 358(2), 472-484 (2006). PDB ID: 1WVU, 1WVV, 2DBT
- Nakatsu, F, Okada, M, Mori, F, Kumazawa, N, Iwasa, H, Zhu, G, Kasagi, Y, Kamiya, H, Harada, A, Nishimura, K, Takeuchi, A, Miyazaki, T, Watanabe, M, Yuasa, S, Manabe, T, Wakabayashi, K, Kaneko, S, Saito, T, Ohno, H.: Defective function of GABA-containing synaptic vesicles in mice lacking the AP-3B clathrin adaptor. *J. Cell Biol.* 167: 293-302 (2004)
- Nakayama, EE, Maegawa, H, and Shioda, T. A dominant-negative effect of cynomolgus monkey tripartite motif protein TRIM5 α on anti-simian immunodeficiency virus SIVmac activity of an African green monkey orthologue. *Virology*, 350: 158-163 (2006).
- Ifuku, K, Nakatsu, T, Kato, H, and Sato, F. *EMBO Rep.* (2004) 4, 362 – 367. PDB ID: 1V2B

- Uzumaki, T., Fujita, M., Nakatsu, T., Hayashi, F., Shibata, H., Itoh, N., Kato, H. and Ishiura, M. *Nat.Struct.Mol.Biol.* (2004) 7, 623 – 631. PDB ID: 1V2Z
- Nakatsu, T., Ichiyama, S., Hiratake, J., Saldanha, A., Kobashi, N., Sakata, K. and Kato, H. *Nature* (2006) 440, 372-376. PDB ID: 2D1Q, 2DIR, 2DIS, 2D1T
- Ihara H., Ikeda Y, Toma S, Wang X, Suzuki T, Gu J, Miyoshi E, Tsukihara T, Honke K, Matsumoto A, Nakagawa A, Taniguchi N., Crystal structure of mammalian α 1,6-fucosyltransferase, FUT8., *Glycobiology*. 17, 455-466 (2007). Epub 2006 Dec 15. PDB ID: 2DE0
- Kubota, T., Shiba, T., Sugioka, S., Furukawa, S., Sawaki, H., Kato, R., Wakatsuki, S. & Narimatsu, H. Structural Basis of Carbohydrate Transfer Activity by Human UDP-GalNAc: Polypeptide α -N-Acetylgalactosaminyltransferase (pp-GalNAc-T10). *J. Mol. Biol.* 359, 708-727 (2006) PDB ID: 2D7I, 2D7R
- Sato, Y., Fukai, S., Ishitani, R., Nureki, O. Crystal structure of the Sec2p•Sec4p complex in the intermediate state of the nucleotide exchange reaction. “Crystal structure of the Sec2p•Sec4p complex in the intermediate state of the nucleotide exchange reaction” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, in press (PDB:2EQD)
- Sato, Y., Shirakawa, R., Horiuchi, H., Dohmae, N., Fukai, S., Nureki, O. Asymmetric coiled-coil structure with guanine nucleotide exchange activity, *Structure* 15, 245-252 (2007) (PDB:2E7S)
- Sato K., Nakano A (2005). *Nature Mol. Struct. Biol.* 12:167-174.
- Matsuura-Tokita K., Takeuchi M., Ichihara A., Mikuriya K and Nakano A (2006). Live imaging of yeast Golgi cisternal maturation. *Nature* 441:1007-1010.
- Abe H., Uto H., Takami Y., Takahama Y., Hasuike S., Kodama M., Nagata K., Moriuchi A., Numata M., Ido A., Tsubouchi H.: Transgenic expression of osteoactivin in the liver attenuates hepatic fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 356: 610-615 (2007)
- Ishimizu T., Sasaki A., Okutani S., Maeda M., Yamagishi M., Hase S. Endo-beta-mannosidase, a plant enzyme acting on *N*-glycan: purification, molecular cloning, and characterization *J. Biol. Chem.* 279 (37), 38555–38562 (2004).

- Tanaka, N., Nakanishi, M., Kusakabe, Y., Goto, Y., Kitade, Y., & Nakamura, K.T. Structural basis for recognition of 2',5'-linked oligoadenylates by human ribonuclease L. *EMBO J.* 23, 3929-3938 (2004). [PDB ID: 1WDY]
- Tanaka, N., Haga, A., Naba, N., Shiraiwa, K., Kusakabe, Y., Hashimoto, K., Funasaka, T., Nagase, H., Raz, A., & Nakamura, K.T. Crystal structures of mouse autocrine motility factor in complex with carbohydrate phosphate inhibitors provide insight into structure-activity relationship of the inhibitors. *J. Mol. Biol.* 356, 312-324 (2006). [PDB ID: 2CVP, 2CXN, 2CXO, 2CXP, 2CXQ, 2CXR, 2CXS, 2CXT, 2CXU]
- Nonaka, M., Ma, B.Y., Ohtani, M., Yamamoto, A., Murata, M., Totani, K., Ito, Y., Miwa, K., Nogami, W., Kawasaki, N., and Kawasaki, T. Subcellular localization and physiological significance of intracellular mannan-binding protein. *J. Biol. Chem.* 2007 Apr 18; [Epub ahead of print]