

5 - 6 タンパク質高次構造形成と機能発現

グループ名 個別的解析プログラム名 (タンパク質高次構造形成と機能発現)

中核機関名 京都大学大学院理学研究科

代表者名 三木 邦夫

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

本課題では、タンパク質が細胞内で合成された後の折れたたみ構造の変化と機能の発現 (立体構造形成、トランスロケーション、ストレス応答、品質管理と分解など) に関与する一連のタンパク質群を対象としてその構造を決定し、得られた構造に基づいた分子レベルでの機能解明を目指した。また、複雑な複合体状態の高次構造形成からの機能発現についての分子機構を理解することも目的とした。さらには、疾病に関わるタンパク質の構造・機能解析にも取り組んだ。これらの構造機能解析に関連して、対象とするタンパク質の調製や結晶構造解析法の高度化に関する基盤的技術の開発を行った。この分野に関わるタンパク質群の幅広い構造・機能解析を推進し、当初の構造解析の目標を達成した。

構造解析の主な成果としては、次のようなものをあげることができる。

[分子シャペロン]

グループ I 型シャペロニンでは、GroEL, GroES, ATP からなる三重複合体を形成して、そのリング内に変性タンパク質を取り込む。基質タンパク質を含んだ初めての例として好熱菌由来の GroEL-GroES 複合体の結晶構造を決定した。基質タンパク質の取り込みによって、7 量体リングが 7 回回転対称から大きく歪んでいることが明らかになった。(吉田, *Structure*, 2004)。一方、グループ II 型シャペロニンは、 α -サブユニット変異体だけからなる 16 量体の結晶構造を決定し、結晶構造で得られた close 型 (基質を取り込んだときのかたち) の構造から、open 型 (基質を取り入れるために開いたときのかたち) の構造を推定することができた (養王田, 三木, *J. Mol. Biol.*, 2004)。

[タンパク質分解とシャペロン]

プリオン様タンパク質 Sup35 によるアミロイドファイバーを分断する Hsp104 (酵母) のホモログである ClpB (好熱菌) モノマーの結晶構造を明らかにし、そのドメイン間の動きが脱凝集の機能を発揮するために重要であることを、構造と変異体解析から示した (吉田, *Cell*, 2003)。

ATP 依存性の膜結合プロテアーゼ FtsH について、ATPase ドメイン、プロテアーゼドメイン、細胞質ドメイン (ATPase ドメイン + プロテアーゼドメイン) の結晶構造をそれぞれ決定し、機能解析も行った。(吉田, *Mol. Cell*, 2006)。FtsH は 6 量体リング構造を示すが、細胞質ドメインの結晶構造中ではプロテアーゼドメインに対して ATPase ドメインがそれぞれ大きく異なった open 型と close 型のコンフォメーションを交互にとっており、open 型のコンフォメーションにおいてヌクレオチドの交換と基質ペプチド鎖の活性部位への挿入が行われる機構を提唱した。

[タンパク質輸送・局在化]

細菌におけるリポタンパク質の内膜から外膜への輸送に関わるタンパク質 LolA (外膜特異的リポタンパク質の分子シャペロン)、LolB (LolA が運んできたリポタンパク質を受け取る外膜特異的リポタンパク質受容体) について、4 種の結晶構造を決定した。LolA と LolB は予想外によく似た構造をとり、それぞれの分子内に存在する疎水性の窪みがリポタンパク質の脂質部分を結合する部位であることがわかった (徳田, 三木, *EMBO J.*, 2003 他)。

ペリプラズムにおけるストレス応答経路 (Cpx 経路) の活性化因子であるリポタンパク質 NlpE の結晶構造を決定した。NlpE の 2 つのサブユニット構造がいずれも β -バレルを形成しており、N 末側のバレル構造に見られる不安定性が Cpx 経路の活性化に重要であることが示唆された (徳田, 三木, 2007)。

[金属取り込みによるタンパク質の成熟化]

鉄イオウクラスター形成によるタンパク質成熟化に関与する種々のタンパク質を決定した。クラスター合成系で機能する SufD は、 α -ヘリックス構造モチーフを持ち、このモチーフで二量化する新規な四次構造であった(福山, 2005)。クラスター中間体を保持する機能がある SufA は二量体で、C 末端側にある Cys 残基が近接しており、二量体の中で Fe-S クラスター中間体を配位することが示唆された(福山, 2005)。ABC-ATPase である SufC は、他の ABC-ATPase には見られない新規の部分構造を有しており、SufD と複合体を形成する機構を考察した(三木, 2005)。

一方、[NiFe]ヒドロゲナーゼの成熟化因子である Hyp タンパク質群、HypA、HypC、HypD、HypE の結晶構造を決定した。Ni 原子の組み込みに関与する HypA は、Ni 結合ドメインと Zn finger ドメインで構成されており、HypB と静電的な相互作用で複合体を形成することが示唆された。Fe 原子の CN 化および組み込みに関わる HypC、HypD、HypE では、HypD がフェレドキシン・チオレドキシンリダクダーゼの活性中心に類似した鉄イオウクラスター環境を持つことが明らかになり、HypCDE 複合体におけるチオールの酸化還元を介した CN 化の反応機構を提唱した。(今中, 三木, *Mol. Cell*, 2007)

[タンパク質フォールディング]

大腸菌ペリプラズム空間で、タンパク質分子内ジスルフィド結合を形成させ正しいフォールドに導く DsbA と、DsbA の酸化能力を回復させるリサイクル膜因子 DsbB が会合した「反応中間体」構造を初めて明らかにした。本来は DsbB 内部でジスルフィド結合を作っていたシステインのペア(Cys104 と Cys130)が、複合体を形成する際の大きな構造変化によって引き離されることで、DsbA に比べて遙かに酸化力が弱いはずの DsbB が DsbA を酸化する機構を明らかにした(伊藤, *Cell*, 2006)。

[高次会合状態と機能発現]

ダイズ種子中の貯蔵タンパク質であり、食糧タンパク質として重要なグリシニンの 3 量体(プログリシニン)ならびに 6 量体会合状態の構造を決定し、会合状態が変化する機能を明らかにした。それぞれ、プログリシニン分子中に存在する 4 箇所のディスオーダー領域が、大きく移動することでグリシニンでは 6 量体が形成される。この結果から 6 量体形成を阻害しないグリシニン変異体の設計が可能になり、血圧低下やコレステロール低下などの作用を有する生理活性ペプチド内在グリシニンの設計などに応用できる。(三上, *PNAS*, 2003)。また、ダイズ以外で緑豆、アズキ、カボチャの種子グロブリンについて結晶構造を決定し、ループ部分の構造の多様性が明らかになった(三上, 2006)。

オートファジーにおいて物質輸送の機能を担うオートファゴソームの形成に関与しているタンパク質 MAP-LC3 (ヒト由来)の溶液構造を決定したところ、MAP-LC3 は microtubule とオートファゴソームの間のアダプタータンパク質として機能することが示唆された。(河野, 水口, *J. Biol. Chem.*, 2005)。

複雑な超分子複合体を形成するタンパク質として、有鬚動物由来の細胞外巨大ヘモグロビン(分子量 38 万)の結晶構造を決定し、ヒトのヘモグロビンとはまったく異なる様式で 4 種類のサブユニットが会合し、全体で 24 量体を形成していることを明らかにした。この巨大ヘモグロビンは酸素を運搬すると同時に、硫化水素も同時に運搬する。得られた結晶構造から、硫化水素結合部位を推定し、その周辺環境から結合のメカニズムを議論した(三木, *PNAS*, 2005)。

[疾病関連タンパク質]

回虫成虫ミトコンドリア膜中に存在し、ロドキノールの酸化と共役してフマル酸をコハク酸に還元する膜タンパク質(複合体 II; 好氣的環境にいる哺乳類の類縁酵素と逆の反応を触媒)の結晶構造を決定した。本酵素を特異的に阻害し哺乳類の類縁酵素には作用しないフルトラニルとの複合体の構造解析から、フルトラニル結合部位周辺にあるトリプトファン残基が哺乳類ではメチオニンに変わっていることがこの化合物の本酵素に対する特異性を決めていることが明らかになった(原田, 北, 2006)。

南米でシャーガス病を引き起こす寄生虫 *Trypanosoma cruzi* のピリミジン合成経路に関わるジヒドロオロト酸脱水素酵素について、native 体と、基質、生成物ならびに阻害剤との複合体構造をそれぞれ決定し、本酵素を特異的に阻害する抗寄生虫薬を開発するための構造的知見を得た(原田, 北, 2006)。

ミトコンドリアに局在するペプチジル・プロリル・シストランスイソメラーゼ(PPIase)であり、心

<p>筋梗塞や脳梗塞などの虚血・再灌流傷害による細胞死を引き起こすミトコンドリア膜透過性遷移に関わることが知られているヒト由来のシクロフィリン D (CypD) の結晶構造を、その阻害剤で虚血・再灌流傷害による細胞死を抑制する作用が知られているシクロスポリン A (CsA) との複合体状態で決定し、CypD 分子表面の大きなクレフトに CsA が結合していることが分かった (辻本, 三木, 2007)。</p>		
<p>2. グループにおけるタンパク質の構造解析について</p>		
	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	179	44
(2)構造解析を終了したが PDB 未登録のタンパク質の数	47	3
(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	
<p>3. 論文掲載数</p>		
	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	483	130
<p>4. 成果の産業連携について</p>		
	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)	19 件 0 件	5 件 0 件
(2)特許登録数 (国内) 特許登録数 (海外)	2 件 0 件	0 件 0 件
(3)成果の産業移転及び産学連携を目的とした共同研究の件数及び内容	<p>平成 14 年 4 月～平成 19 年 3 月： 14 件</p> <p>(内容)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 結晶自動観察システムの開発 2. 有用ペプチド配列導入ダイズタンパク質の分子設計 3. タンパク質結晶用 Grid Screening 溶液の調整 4. 耐熱性 hydrogenase とその水素生産 5. 超好熱菌を利用した有用タンパク質の耐熱化 6. アミド化合物の工業生産に用いる酵素の機能・構造 7. 分裂酵母を用いたタンパク質大量発現におけるシャペロンの効果 8. 膜タンパク質予測システムの改良・公開 9. LolA と LolB をターゲットにした薬剤の検索, 阻害剤の発見 10. 立体構造解析に基づく受容体の活性化機構 11. 膜結合抗原と抗体の認識機構 12. 立体構造を認識する抗体の設計・調製 13. 創薬標的タンパク質の NMR 解析 (蛋白質構造解析コンソーシアムとの連携) 14. キナーゼ変異を高感度に検出する遺伝子変異検出用アレイ 	

(4)成果の産業移転に関する具体的な例	<ol style="list-style-type: none"> 1. 結晶自動観察システムの製品化（三谷商事（株）） 2. 膜タンパク質予測システムの製品化（三井情報（株）） 3. 既知リガンドによる受容体の活性化機構 4. 医薬品候補サイトカインの立体構造解析 5. アゴニスト抗体による受容体の活性化機構に関する知見 6. 膜結合抗原への抗体認識機構 7. 立体構造を認識する抗体の作製法 8. サブクラス別の Fab 調製法
(5)出願した特許の具体的な例	<ol style="list-style-type: none"> 1. グリシニン、β-コングリシニンおよびプログリシニンの結晶、三次元座標、三次元構造およびそのモデル、並びにそれらの使用（特開 2002-193996） 2. 耐熱性アスパルターゼの結晶（特開 2005-137218） 3. レクチンの結晶（特開 2005-154378） 4. スクリーニング用溶液の作製方法及び装置（特開 2005-077255） 5. トランスサイレチンとアミロイドβ-ペプチドとの間の相互作用（特開 2005-097194） 6. 水素の製造法および製造装置（特開 2003-116589） 7. 耐熱性 DNA ポリメラーゼの改変方法（特開 2005-065540） 8. 耐熱性エステル加水分解酵素を用いた反応方法（特開 2003-325171） 9. DNA ポリメラーゼ関連因子（特開 2002-360261） 10. 耐熱性プロテアーゼ（特開 2007-006846） 11. 蛋白質の判別方法（特許 3722420） 12. ダンベル型水溶性蛋白質の判別方法、及びその為のコンピュータプログラム（特開 2002-286725） 13. シグナルペプチドの判別方法、及びそのためのコンピュータプログラム（特開 2003-014734） 14. 細菌リポタンパク質局在化因子 LolA および LolB の結晶構造（特開 2005-008520） 15. ヒト老化マーカー及びストレスマーカーの検定方法（特許 3754611） 16. 急性骨髄性白血病治療剤の候補物質を同定する方法（特願 2006-155281） 17. CD20 陰転化 B 細胞性悪性リンパ腫細胞株及びその利用（特願 2006-259355） 18. マイクロ RNA 生成の検出方法と癌の診断・治療及びマイクロ RNA 生成調整剤（特願 2006-266918） 19. D-セリンデヒドラターゼ及びその応用（特願 2006-283398）
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	
<p>[研究設備]</p> <p>800 MHz NMR 装置（Bruker 社製 Avance 800 MHz）</p> <p>富山医科薬科大学薬学部（現・富山大学杉谷キャンパス）に設置（平成 17 年度より日本製薬工業協会加盟企業による蛋白質構造解析コンソーシアムと基本協定を締結し広汎な産業連携利用を促進）</p> <p>イメージングプレート X 線解析装置（リガク社製 R-AXIS VII/MB + MicroMax007）</p> <p>京都大学大学院理学研究科に設置</p> <p>[育成された人材]</p> <p>本プロジェクト費用により雇用した研究者の人数：22 名（その他，研究・技術補助者 4 名）</p>	

研究者のプロジェクト終了後の就職状況：

久留米大学医学部・助教 1 名，岡山大学工学部生物機能工学科・助教 1 名，新潟薬科大学・助教 1 名，名古屋大学大学院生命農学研究科・助教 1 名，Punjab University, Pakistan・教授 1 名，別プロジェクトの研究員（ポスドク等） 14 名，民間企業等 2 名，その他 1 名

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

タンパク質構造解析技術の開発に関して，新規タンパク質に対するモノクローナル抗体の調製，抗体を用いた結晶化・構造決定を推進した（黒木）．抗体との複合体の結晶化にはポリエチレングリコールが有効であることをつきとめ，市販のスクリーニング系を基準にして抗体複合体の結晶化に特化した結晶化スクリーニング試薬の開発を進めた．本グループ内で新しいターゲットへの適用を進め，幅広いタンパク質への適用の可能性を検討した（黒木，三木の連携）．

大型放射光施設 SPring-8 における多波長異常分散法の汎用的実験法の開発(XAFS 測定を行わずに行う実用的実験法の開発，高エネルギー（短波長）X線による Xe や I 原子の多波長異常分散法の開発など）に取り組んで，それぞれに成果を得た（三木，2004）．

結晶化の技術開発に関して，通常の実験室スケールに適した自動結晶化観察装置の開発を行った（三木，三谷商事（株）との共同）．自動結晶化観察装置についてはすでに商品化され市販されている．

膜タンパク質の予測システムの改良を行い，三井情報（株）より製品化した（美宅）．結晶化の困難な試料について，そのドメイン単位での結晶化を支援するための計算による二次構造ブレーカー予測プログラム（美宅，2005），シグナルペプチドの予測法（美宅，2004）が開発された．

超好熱菌としては世界初の遺伝子破壊系を構築し，その改良を進めることにより汎用性の高い遺伝子破壊・導入技術を確立した．本系の開発により超好熱菌の遺伝学的解析手法が可能となり，超好熱菌の育種も可能となった（今中，2005）．

7. タンパク質の機能解析に関する成果の概要について

機能解析のグループでは，それぞれのターゲットの機能解析を進め，多くの重要な知見を得た．

[タンパク質輸送・局在化]

SecY や SecE の変異解析により，トランスロコン機能の制御や膜貫通ドメインの役割に関して情報を多数得た．SecY-SecG, SecY-SecE の近接部位を決定した(伊藤, 2003)．タンパク質分泌装置の駆動 ATPase である SecA は，分泌モニタータンパク質 SecM によって巧みな制御を受けていることを発見した（伊藤，*PNAS.*，2004）．RseP について，プロテアーゼ活性を示し，RseA 以外の TM 配列を切断し得ること，効率の良い切断には TM 配列中の helix-braking 残基が重要であることを示した(伊藤，*EMBO J.*，2004)．

大腸菌に存在する 90 種以上のリポタンパク質それぞれの遺伝子を破壊することにより，必須リポタンパク質 2 種（LolB, YfiO），生育を高温感受性にするもの 7 種（DcrB, YcfM など），溶菌を引き起こすもの 1 種（YfgL），薬剤に対し高感受性にするもの 5 種（YcfM など）を明らかにした（徳田）．

ミトコンドリア膜タンパク質の輸送システムおよび内膜の 6 回膜貫通型タンパク質 ABCme についての輸送シグナル配列などの研究を進めた（三原，2005）．疎水性の高いマルチスパン膜タンパク質（ABC 輸送体）のミトコンドリア輸送シグナル配列（N135）の機能解析を行い，この配列が ABC 輸送体のタンパク質合成に共役した小胞体への標的化を抑制し，かわってミトコンドリアへの合成後の輸入を実現する特異な機能を持っていることを明らかにした（三原，阪口）．ミトコンドリアのタンパク質膜透過孔を形成する TOM40 の，大腸菌における発現，可溶化，精製の条件を設定し，還元完全編成後の再生が可能となった（阪口）．

[分子シャペロン]

II 型シャペロニンと補因子プレフォルディンとの協調作用機構を詳細に解析した（養王田，2006）．オリゴマー構造が安定な ClpC を発見した．一方，sHsp の構造はオリゴマーとして存在するが，オリゴマー構造は変性タンパク質結合部位が隠された不活性な状態であり，オリゴマー解離によってシャペロン機能が発現することを明らかにした（養王田）．

基質タンパク質を含んだシャペロニン GroEL-GroES 複合体の構造情報から、新たな基質結合部位を発見し、変異体を作成することで生化学的に新たな GroEL-GroES 反応機構を提唱した(吉田, *Structure*, 2004)。さらに、基質の落とし込みに関して重要な残基を決定する報告を行った(吉田, 2007)。

[タンパク質分解とシャペロン]

コラーゲンに特異的な小胞体分子シャペロン HSP47 は 3 本鎖コラーゲンに結合することによって、その安定化に寄与し、また小胞体内でのコラーゲンの凝集阻止に働いていることを明らかにした。EDEM がミスフォールドタンパク質の品質管理、特に小胞体関連分解に重要な役割をもつ基質認識分子である可能性を示し、この分野のブレークスルーをもたらした。(永田)。

哺乳動物の小胞体ストレス応答の 3 つの経路(ATF6 経路, IRE1-XBP1 経路, PERK-ATF4 経路)のうち、IRE1-XBP1 経路で機能する転写因子 XBP1 が、小胞体膜の主要な成分であるリン脂質の合成を誘導して小胞体の発達を促すことを見いだした。小胞体内に異常タンパク質が蓄積するとまず ATF6 が作用して、それが不十分なら XBP1 が作用するという時間依存的相転移モデルを提唱した。XBP1 により転写誘導される小胞体関連分解構成因子として小胞体膜 4 回貫通タンパク質 Derlin を同定した。ATF6 の小胞体ストレス感知機構を解析し、内腔領域のジスルフィド結合の還元が重要であることを見いだした(森, *Mol. Cell. Biol.*, 2007)。

[金属取り込みによるタンパク質成熟化]

超好熱始原菌 *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株で、ヒドロゲナーゼ成熟化に関与する Hyp タンパク質群(ヒドロゲナーゼ成熟化因子 HypA-HypF)の相同遺伝子を同定し HypC が hydrogenase L subunit および HypD と相互作用することを示した(今中)。Signal peptide peptidase と相同性を示す遺伝子を同定し、触媒残基を同定した(今中, 2006)。

[高次会合状態と機能発現]

グリシニンおよびコングリシニンの分子中に数箇所が存在するループ領域に血圧降下作用等の有用な生理機能を有するペプチド配列を挿入した結果、実際に消化後に生理活性を発揮することを明らかにした(三上, 2006)。

老人の眼の水晶体中では α A-crystallin の Asp 58, 151 が大きく D-体化しており、これらの Asp 残基は本タンパク質中で非常にラセミ化しやすいことが明らかとなった(藤井, 2007)。

[疾病関連タンパク質]

ペルオキシシン遺伝子 *PEX26* のクローニングに成功し、これにより 13 種の相補性群全ての病因遺伝子が同定・クローニングされた(藤木, *Nat. Cell Biol.*, 2003)。

ヌクレオフォスミン(NPM1)キナーゼとの結合ならびにリン酸化について、生化学的あるいは細胞生物学的手段を用いて解析を行った(直江)。

好熱性細菌アラニンラセマーゼの N-末端ドメインと相同な立体構造をもつと予測された大腸菌 YggS が嫌気条件下でのアルギニン代謝に関わる可能性を見いだした。また同様の構造を持つことが推測される出芽酵母の Ygl196Wp が、基質特異性が極めて高い D-セリンデヒドラターゼであることを見だし、その酵素学的性質を明らかにした(吉村)。

8. これまでの評価に対する反映状況について

「テーマが分散的で問題の掘り下げ方が浅く、拠点としてテーマに鋭く迫っているとは言えない」、とのご指摘に対して、拠点内の連携を含めて次のように取り組んだ。たとえば、本領域での中心的テーマの一つであるシャペロニンについて、グループ I, グループ II の両タイプでの新たな構造解析を行い(吉田, *Structure*, 2004; 養王田, 三木, *J. Mol. Biol.*, 2004), グループ I, グループ II での構造上の類似点, 相違点を意識して、それぞれ、基質を取り込んだ状態における構造変化, 変異体導入による基質取り込みに連動したシャペロニン分子の「蓋」部分の開閉についての議論を深めた。この基質取り込みに関する「蓋」部分の動きは、協同して働くコシャペロニンの構造などからも議論が深まっている。また別の注目すべきシャペロニンの機能である凝集体の解きほぐしに関して、この機能を持つ分子シャペロン

ClpB についても構造が決定され (吉田, *Cell*, 2003), ドメイン間の動きの重要性を明らかにし, DnaJ, DnaK との関係に関わる機能的な解析が進んだ. これらのシャペロン分子に関しては, 構造研究からの特徴的な掘り下げを行うことができたと考えている. 他の重要なテーマとして取り組んでいるタンパク質の成熟化, 特に, 金属原子 (クラスター) の取り込みに関しても, 一連の Fe-S タンパク質成熟化 Suf マシーナリーの SufA, SufC, SufD の構造をそれぞれ決定した (福山, 2005; 三木, 2005). 同じく金属取り込みに関して, NiFe 型水素ゲナーゼの成熟化に関わる Hyp タンパク質群のうち, HypA, HypC, HypD, HypE の結晶構造をいずれも初めて決定し (今中, 三木, *Mol. Cell*, 2007), それぞれのタンパク質について構造と機能の関係に重要な知見を得て, Hyp システムとしての反応機構を統括的に理解できた. これら一つのシステムに関与し, これまでその構造的基盤が未知であったタンパク質群を網羅的に解析することで, 深く掘り下げた議論が可能になったと考えている.

「標的の多彩さを利用して機能発現に重要だが見過ごされている問題 (例えば "protein non-folding problem") に挑戦するの一案」とのご指摘への取り組みの一例として, グループ I シャペロニンの補因子 Cpn10 (Gro-ES) のループ領域に着目した. この領域は Cpn60 (Gro-EL) との結合部位が存在するが, 非常に長いフレキシブルなループ領域となっており, Cpn10 単独では結晶構造中ではほとんど電子密度が確認できず, 溶液中では大きく揺らいでいると思われる (三木, 2005). しかしながら, Cpn60 と複合体を形成するとしっかりと固定されることが, 複合体の結晶構造から明らかになっている. また, 基質を分子内部に取り込んだ状態でのゆがんだ シャペロニン複合体結晶構造とも比較して, 大きく揺らいでいることの意味を考えることができた. また, リポタンパク質受容体である LolB の構造中には特定の二次構造をとらない箇所があり, これはリポタンパク質を外膜に移行させる役目のために, 揺らいでいることが重要であることが示唆された.

「Misfold 病の予防と治療に対する社会的要請は強いがゆえに, 本グループの主題への期待も大きい」とのご指摘で, ミスフォールド病への取り組みとして, アルツハイマー病発症に関わる Fe65 タンパク質の WW ドメインの溶液構造を決定し (河野, 水口, 2006), 他の関連タンパク質とともに構造と機能の解析を進めた. また, α A-, α B-crystallin の異常凝集が白内障を引き起こすことに関して, アミノ酸の反転とミスフォールド病の関係が指摘されている (藤井). さらに, ミスフォールド病は α ヘリックス構造の中心部分がブレイクし 2 本の β シートに成るという構造変化が素過程であることから, 構造予測の対場から, 二次構造ブレーカーの予測システムを発展させて (美宅, 2005) ミスフォールド病の原因タンパク質のアミノ酸配列解析を行った.

ミスフォールド病関連の研究を進展させ, 「小胞体でのミスフォールド病関連」として, 18 年度より計画された研究においては, 各分担機関で精力的に研究が行われた. HSP47 がコラーゲンに結合する際に重要なアミノ酸配列の解析や (永田, 2006), EDEM が分子シャペロン様の機能を持つ可能性の示唆 (永田, 2006), ATF6 の小胞体ストレス感知機構を解析し, 内腔領域に形成されているジスルフィド結合の還元が重要であることを見いだす (森, *Mol. Cell. Biol.*, 2007) など, 機能解析において重要な成果が得られた. 平行して構造解析のための試料調製を進めたが, 予想されたとおり, これらのタンパク質はいずれも, その大量発現, 可溶化, 高純度精製などに大きな困難があったため, 期間内には結晶構造解析までには至らなかったが, 実際に結晶化スクリーニングに持ち込めたものもあり, 今後の実現に向けて着実な成果をあげた. また小胞体内においては, ジスルフィド結合の形成を伴うタンパク質の酸化的フォールディングを正確かつ迅速に行うための機構が備わっているが, グラム陰性細菌である大腸菌においては, ペリプラズム空間において同様の機能を担うタンパク質群が存在している. これらのうち, DsbA-DsbB 複合体の結晶構造解析が成功し, DsbA-DsbB-ユビキノン酸化システムの反応機構を解明することができた (伊藤, *Cell*, 2007). 真核細胞の小胞体内において同様の機能を担う酵素システムである, protein disulfide isomerase (PDI)-Ero1p-FAD システムと比較して, とくに DsbB と Ero1p はともに four helix bundle の基本構造を有しているなど, DsbA-DsbB 複合体の構造情報が小胞体における酸化システムの仕組みの解明にも大きな波及効果を及ぼすものであり, 拠点内での連携により, 真核細胞の系と原

核細胞の系とを共通に理解するための構造的基盤を得られたと考えている。

「先駆的情報が圧倒的に多いとは云いがたい。一層の挑戦を期待したい。」とのご指摘に対して、プロジェクト後半には、次のような複数の先駆的情報が得られたと考えている。DsbA-DsbB 複合体の結晶構造（伊藤，*Cell*，2007），NiFe 型水素ゲナーゼの成熟化に関わる一連の Hyp タンパク質群（HypA，HypC，HypD，HypE）の結晶構造（今中，三木，*Mol. Cell*，2007）。ATP 依存性の膜結合プロテアーゼ FtsH の 3 種類のドメインの結晶構造（吉田，*Mol. Cell*，2006）。ATF6 の小胞体ストレス感知機構解析でのジスルフィド結合の還元的重要性の発見（森，*Mol. Cell. Biol.*，2007）。Type III Rubisco（10 量体構造）が関与する新しい代謝経路（今中，*Science*，2007）など。

「サブ機関を精査して、先鋭的な研究ができる仕組みを」あるいは「サブ拠点によっては、現時点でも課題との整合性に改善の余地が残されているように思う」とのご指摘に対しては、次項に示すようにメンバー構成を定期的に見直し、入れ替えも行った。

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）

中核機関として、プロジェクトの開始時に掲げたタンパク質の構造解析数は 5 年間で 50 個であり、現在の PDB 登録数（179）はこれを上まわっており、当初の目標は達成できている。また、この間 19 件の国内特許を出願した。構造解析のみならず、機能解析においても、十分に質の高い成果を発表できたと考えている。技術開発に関しては、大きな装置開発的なものはないが、研究業務を進める上で直接必要かつ有用な研究室レベルでの技術を中心に、特徴的な開発が行われたと考えている。その結果、研究論文発表としては、原著論文で 480 報以上となり、*Nature*、*Science*、*Cell*、*Mol. Cell*、*Nat. Cell Biol.*、*EMBO J.*、*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* などをはじめとする、主要なジャーナルに掲載された。

これまでの分担機関およびその課題は下記の通りであるが、各年度の分担機関（再委託先）での研究進捗状況に鑑み、分担機関を定期的に再編成した（下記一覧の「期間」参照、なお平成 18 年度には、「疾病関係」ならびに「産業利用等」に関する 4 分担機関を加えている）。

機関	期間	機関名/代表者名/課題名
中核	14-18 年度	京都大学大学院理学研究科/三木 邦夫 タンパク質高次構造形成と機能発現
再委託	14-18 年度	大阪大学大学院理学研究科/福山 恵一 鉄硫黄タンパク質の成熟化に関する研究
再委託	14-18 年度	京都大学大学院農学研究科/三上 文三 ダイズ蛋白質 11S 形成機構の解明に関する研究
再委託	14-17 年度	京都大学化学研究所/畑 安雄 タンパク質高次構造形成に関連するタンパク質の構造解析に関する研究
再委託	14-16 年度	京都大学原子炉実験所/森本 幸生 細胞内小器官形成およびプロテアソーム関連蛋白質の構造生物学
再委託	14-18 年度	北海道大学大学院理学研究科/河野 敬一 変異型アンチトロンビンの分泌異常機構に関わるタンパク質群の立体構造解析
再委託	14-18 年度	京都大学大学院工学研究科/今中 忠行 超好熱始原菌におけるタンパク質高次構造形成と機能発現に関する研究
再委託	14-18 年度	東京農工大学共生科学技術研究部/養王田正文 単細胞生物由来シャペロン蛋白質の構造と機能に関する研究
再委託	14-18 年度	名古屋大学大学院工学研究科/美宅 成樹 膜タンパク質を中心としたドメイン同定と局所構造予測の計算科学的研究
再委託	14-18 年度	東京工業大学資源化学研究所/吉田 賢右 分子シャペロンの機能解析
再委託	14-18 年度	京都大学再生医科学研究所/永田 和宏 タンパク質の品質管理に関する研究
再委託	14-16 年度	京都大学大学院生命科学研究科/森 和俊 (17 年度以降は大学院理学研究科に移籍し中核機関内で研究)
再委託	14-18 年度	小胞体ストレス応答のメディエーターの構造に関する研究
再委託	14-18 年度	京都大学ウイルス研究所/伊藤 維昭 細胞膜に置けるタンパク質の動態制御システムに関する研究

再委託	14-18 年度	東京大学分子細胞生物学研究所/徳田 元 ペリプラズム機能を支えるリポ蛋白質群の構造と機能
再委託	14-17 年度	九州大学大学院医学研究院/三原 勝芳 ミトコンドリアの蛋白質輸送と膜のダイナミクスの制御に関わる蛋白質群の解析
再委託	14-18 年度	九州大学大学院理学研究院/藤木 幸夫 ペルオキシソーム形成因子ペルオキシシン群の構造と機能解析
再委託	14-18 年度	日本原子力研究開発機構/黒木 良太 抗体を用いた分泌蛋白質の機能および結晶構造解析
再委託	16-18 年度	富山医科薬科大学薬学部/水口 峰之 新規 dynein light chain ファミリー蛋白質の NMR による構造解析
再委託	16-18 年度	京都大学原子炉実験所/藤井 紀子 ヒト水晶体の α -クリスタリンの高次構造と機能の解明
再委託	16-18 年度	兵庫県立大学大学院生命理学研究科/阪口 雅郎 膜タンパク質の標的化と構造形成に関わる因子の構造解明
再委託	17-18 年度	京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科/原田 繁春 プロテインジスルフィドイソメラーゼの構造機能研究
再委託	18 年度	大阪大学大学院医学系研究科/辻本 賀英 ミトコンドリアシクロフィリン D の構造と機能に関する研究
再委託	18 年度	名古屋大学大学院医学系研究科/直江 知樹 白血病にかかわるヌクレオホスミンの構造と機能に関する研究
再委託	18 年度	東京大学大学院医学系研究科/北 潔 ミトコンドリアのキノール酸化酵素の構造と機能
再委託	18 年度	名古屋大学大学院生命農学研究科/吉村 徹 耐熱性酵素の構造解析

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

外部への広報としては、プロジェクトの発足時から主に学会活動を通して、グループからの研究成果の発表に努めてきたが、平成 18 年 4 月に本中核機関代表者が年会長として開催した第 6 回日本蛋白質科学会年会（京都）においては、プロジェクトの最終年度であることに鑑み、本年会での発表を通して、本グループからの研究成果を広く発信した。また、年会のシンポジウム、ワークショップでは、プログラム委員会で審議された結果、本プロジェクト全体に直接、間接に関係するテーマが多く取り上げられ、結果として、このプロジェクトに参画している中核および分担機関からの多くの発表があった。さらには個別的解析プログラムの中核機関代表者にも働きかけて、それぞれのグループのテーマに関する研究成果の発表を募ったところ、それぞれの領域からも多くのポスター発表が行われた。

グループ内ではこれまで年 1 回の連絡会議を行い、各サブ機関でのプロジェクトの進捗状況を把握し、各サブ機関との議論を通して、グループ全体での連携性の確保に努めた。加えて、メール等による情報の発信と返信、グループ内のワーキンググループ委員との協議などの意思疎通を行ってきた。また、ホームページによって進捗状況を公開し、グループ内での情報の共有にも努めた。

グループ内には、タンパク質調製が困難なターゲット（膜タンパク質を含む）に取り組んでいる機能解析グループが複数あり、これらの分担機関とは特に密な連携を取ることに努めた。特定の分担機関とはほぼ研究室全体が参加するワークショップを行い、あるいは数名の分担機関の代表者の講演会を開催して、担当者どうしが深い議論と情報交換を行えるように努めた。

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

グループ内の各機関（およびその連携）での個々の成果からの例として、次のようなものがある。
[タンパク質の構造・機能]

本プロジェクトで新規に明らかになったリポタンパク質の選別と輸送の機構は、新規のフォールドとともに、それまで未知の分野に初めて構造的基盤をもたらし、特異的に作用する新たな抗菌剤の設計の可能性を示した（徳田，三木）。

本課題では、タンパク質が細胞の特定の場所に配置され細胞を形づくる際の機構解明を、モデル生物として大腸菌を用いて解析した結果、膜透過モータータンパク質 SecA，膜透過チャネル（トランス

ロコン) SecYEG, 膜プロテアーゼ, ジスルフィド結合導入装置などで多くの新たな知見を得た。これらの成果は, 大腸菌の表層タンパク質の動態にとどまらず, 相同的なタンパク質が働く真核細胞におけるプロセスの解明にも役立ち, 基本的な生体システムの理解に資するものであり, 我が国の科学技術発展に大きく寄与する(伊藤)。

[タンパク質研究の方法論, 装置利用など]

抗体医薬品の開発が盛んに進められる中, 抗体との複合体化による結晶構造解析は, 単に解析対象となる標的抗原タンパク質の立体構造の決定だけでなく, 抗体に付加された様々な機能(アゴニスト活性, アンタゴニスト活性)の発現機構の解明においてもきわめて重要な知見を得ることができた。今後, 企業との調整を進めて, これらの知見の迅速な公開に努める(黒木)。

本プロジェクトにおいて, 膜タンパク質の予測システムの改良が進み, その結果, 多くの研究者に用いられることになった。その引用件数は, 本プロジェクトの期間に 330 件余り増え, 我が国の科学技術の発展に大きく貢献していたと考えられる(美宅)。

構造ゲノム科学研究を進める上での機能未知遺伝子の機能解明を通じて, 多数の新規機能分子を同定できた。機能未知遺伝子の機能を特定した場合にそのホモログをもつ他の生物種の研究にも大きく貢献することが予想される。ここで開発・改良された超好熱菌遺伝子破壊系の有用性の評価は極めて高く, 多くの欧米研究グループからその方法論の教示や系の譲渡などの共同研究の依頼がある(今中)。

[疾病関係, 創薬への応用など]

本プロジェクトで, HSP47 が肝硬変を始めとする繊維化疾患の治療薬開発の重要なターゲットであることが明らかになり, HSP47 阻害薬の探索が企業との共同研究が始められようとしている(永田)。

本課題研究で, 重篤な先天性疾患である Zellweger 症候群に代表されるヒト先天性ペルオキシソーム欠損症の病因遺伝子の解明を目指し, CHO 変異細胞を用いて世界で初めてペルオキシソーム形成因子のクローニングに成功, Zellweger 症候群の最初の病因遺伝子の解明(1992)から 13 種の相補性群全ての病因遺伝子が同定・クローニングされ, 非常に高い評価を受けた(藤木)。

開発途上で社会問題となっている感染症を引き起こす寄生虫を対象に, その生存に必須のタンパク質の構造やいくつかの阻害剤との複合体構造が解明できた。それによって, 今後, 化合物ライブラリーを探索し, 各々のタンパク質の結合する化合物を見出すことで, 抗寄生虫薬のリード化合物を分子設計することができると考えられる(北, 原田)。

死亡率が高く, あるいは生存後の QOL が極めて悪い心筋梗塞や脳梗塞に関わる因子(シクロフィリン D)や細胞死機構の一部を明らかにできたことは, これら疾患の治療薬開発の意味でも重要な知見を提供できたものである。さらに, シクロフィリン D の構造解析から, その機能標的分子の同定の方向性が見え, 心筋梗塞や脳梗塞の治療薬の標的になる可能性を示す重要な知見となった(辻本)。

[産業応用など]

新たに解明したダイズグリシニンおよび種々の種子グロブリンの構造を実際に利用して, 生理活性ペプチドの導入等を行った結果, 今までタンパク質の構造にあまり興味を示さなかった食品業界から注目され, タンパク質構造に基づいた高付加価値食品の開発等の研究が促進された(三上)。

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
括弧内 15 年度補正予算分	280,000	360,000 (345,230)	227,000	204,000	194,000	1,265,000 (345,230)
設備費(千円)	108,179	126,663 (345,230)	21,796	16,637	12,172	285,447 (345,230)
括弧内 15 年度補正予算分						
人件費(千円)	25,285	93,154	102,474	81,713	69,623	372,249
運営費(千円)	135,571	122,449	92,480	96,290	96,912	543,702
管理費(千円)	10,965	17,734	10,250	9,360	15,293	63,602

(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)
LolA	1IWL	Released	2003-07-15	リポタンパク質(脂質結合タンパク質)が細胞膜の内膜から外膜への移動する時に, その運搬役を担うペリプラズム空間のシャペロン. このような機能を持つタンパク質の初めての構造解析例であり, また, 新規フォールド.	結合ポケットと相互作用する薬剤スクリーニングへの道を開き, 新たな抗菌剤, 除草剤開発などへの応用が期待できる.
LolA	1UA8	Released	2003-07-15	同上. 上とは異なる結晶系での構造であり, 比較すること, リポタンパク質を取り込む疎水性空洞の蓋になるヘリックスの構造上の流動性を確認できた.	同上
LolB	1IWM	Released	2003-07-15	LolA が運んできたリポタンパク質を受け取る外膜に存在するリポタンパク質受容体. アミノ酸配列の相同性が無いにもかかわらず, 構造は LolA に類似(LolA, LolB フォールドと呼ばれる新規構造).	同上
LolB	1IWN	Released	2003-07-15	同上であるが, 基質類似物としての PEGMME 分子(結晶化に用いた)を疎水性空洞に結合しており, リポタンパク質を取り込むときのモデル構造.	同上
Fucose specific lectin	1IUB	Released	2003-09-30	糖鎖のフコースに特異的に結合するレクチン. 1 分子中に 5 箇所あるフコース結合サイトのフコース親和性の違いや, 2 量体の形成について考察した.	未定
Fucose specific lectin (with Hg)	1IUC	Released	2003-09-30	同上	同上

Thermosome α (G65C/I125T)	IQ2V	Released	2004-01-27	グループIIシヤペロニンの基質取り込みと運動する構造変化，特に基質を取り込む空洞部分の蓋構造の開閉機構の解明につながる．	グループIIシヤペロニンを反応場などに用いることへの応用研究．
Thermosome α (G65C/I125T+AMP-PNP)	IQ3Q	Released	2004-01-27	同上．AMP-PNP を結合した時の構造変化を調べ，基質取り込み機構の解明につなげる．	同上
Thermosome α (I125T)	IQ3R	Released	2004-01-27	同上．上の2つが2カ所の変異を持つものに対して1カ所の変異をもつグループIIシヤペロニンの構造解析．	同上
Thermosome α (G65C + ADP)	IQ3S	Released	2004-01-27	同上．異なる1カ所の変異をもつグループIIシヤペロニンにADP が結合したものの構造解析．	同上
AmyK38 (wild)	IUD2	Released	2003-07-22	カルシウムを含まない α -アミラーゼの最初の構造およびその結晶学的証明．高次構造形成に必要と思われてきた金属の構造安定化機構と，金属がない場合の安定化機構の比較．	酸化剤耐性の（食器および衣料用）洗剤配合成分の開発など
AmyK38 (N289H)	IUD3	Released	2003-07-22	同上（変異体）	同上
AmyK38 (wild from CaCl ₂)	IUD4	Released	2003-07-22	同上（カルシウム存在下での結晶化）	同上
AmyK38 (with Rb ⁺)	IUD5	Released	2003-07-22	同上（結晶学的証明のための他の金属イオン結合体）	同上
AmyK38 (with K ⁺)	IUD6	Released	2003-07-22	同上（結晶学的証明のための他の金属イオン結合体）	同上
AmyK38 (wild Li ⁺)	IUD8	Released	2003-07-22	同上（結晶学的証明のための他の金属イオン結合体）	同上
Photolyase /Received X-Rays Dose	IOWL	Released	2004-04-13	X線照射による構造変化を，もう一つの補欠分子であるFADの還元状態の変化とともに，観測した．	未定
Photolyase /Received X-Rays Dose	IOWM	Released	2004-04-13	同上	同上
Photolyase	IOWN	Released	2004-04-13	同上	同上

/ Received X-Rays Dose									
Photoreduced Photolyase /Received X-Rays Dose	IOWO	Released	2004-04-13	同上	同上	同上		同上	
Photoreduced Photolyase /Received X-Rays Dose	IOWP	Released	2004-04-13	同上	同上	同上		同上	
V-type ATPase C-subunit	IV9M	Released	2004-05-04		複雑なサブユニット構成をしている膜結合タンパク質複合体である ATPase で、これまで構造研究の例は少ない V 型 ATPase の V _o -部分を構成する膜内 C サブユニットの結晶構造・複雑なサブユニット構成をしている膜結合タンパク質複合体におけるこのサブユニットの位置や役割を同定した。			未定	
Peroxi-redoxin (AhpC)	IWE0	Released	2004-03-29		細菌で過酸化物を分解するタンパク質の 10 量体構造の決定・酵母での相同タンパク質では過酸化水素濃度の上昇や Heat Shock によって過酸化水素分解活性を失って、シャペロン活性が発現する。			未定	
アルカリリセリンプロテアーゼ KP-43 (native, 低温構造)	IWMD	Released	2004-09-14		類縁のプロテアーゼに比べて、C 末端に 130 残基程度延長しているアルカリリセリンプロテアーゼ KP-43 の結晶構造・この C-末端ドメインは自らのフォールディングに対して分子内シヤペロンの機能を持つ可能性がある。			酸化剤耐性の洗剤配合成分の開発など	
アルカリリセリンプロテアーゼ KP-43 (native, 室温構造)	IWME	Released	2004-09-14	同上	同上			同上	
アルカリリセリンプロテアーゼ KP-43 (酸化型)	IWMF	Released	2004-09-14	同上	同上			同上	

低温構造)								
Co-chaperonin (Cpn-10)	1WNR	Released	2004-12-07		Cpn60 と共役してシャペロンの機能を発現する．	未定		
BLUF	1X0P	Released	2005-01-07		青色光に対するセンサータンパク質 .環状 10 量体の新規構造 .補欠分子 FAD の周辺残基と吸収波長との関係を示した．	未定		
SufC	2D2E	Released	2005-10-25		鉄イオウクラスタ形成に関わるタンパク質群のひとつ．他の ABC-ATPase では見られないリンカー領域の構造の SufBCD 複合体の形成に対する関与を考察した．	未定		
SufC (with ADP)	2D2F	Released	2005-10-25		同上	同上		
Giant Hemoglobin	2D2M	Released	2005-10-25		無脊椎動物のヘモグロビン 24 量体構造の決定 .酸素と同時に , 猛毒である硫化水素を運搬する特異な機能メカニズムの解明．	未定		
Giant Hemoglobin (with Hg)	2D2N	Released	2005-10-25		同上	同上		
AGM1 (apo form)	2DKA	Released	2006-05-16		真菌の細胞壁合成や真核生物の糖タンパク質合成において前駆体となる,UDP 糖の合成に関わるリン酸基転位酵素.	未定		
AGM1 (substrate complex)	2DKC	Released	2006-05-16		同上	同上		
AGM1 (product complex)	2DKD	Released	2006-05-16		同上	同上		
St photolyase	2E0I	Released	2006-11-28		古細菌由来の光回復酵素の構造を初めて決定した . 光回復酵素のもつ集光性補酵素にはいくつかの種類が知られているが ,FAD が使われている可能性を示唆する初の例を提示した．	未定		

AT-rich protein	DNA-binding	2DT5	Released	2007-01-02	高度好熱菌由来 NADH/NAD ⁺ 依存性酸化還元センサーであり、呼吸鎖関連伝子の発現調節を行うリプレッサーと相同性の高いタンパク質 .DNA 結合ドメインに硫酸イオンが結合している .	
HypC		2Z1C	on hold		NiFe ヒドロゲナーゼ成熟化タンパク質 .鉄原子の組み込みに関わる分子シャペロンで、初めての構造解析例 .	未定
HypD		2Z1D	on hold		NiFe ヒドロゲナーゼ成熟化タンパク質 .鉄硫黄クラスターとチオール基による酸化還元カスケードの存在が明らかになり チオール酸化還元による鉄原子のシアノ化反応機構を提唱した .	同上
HypE (outward form)		2Z1E	on hold		NiFe ヒドロゲナーゼの成熟化タンパク質の一つで、シアノ基の生合成に関与 . ATP 依存的な反応サイクルを説明した .	同上
HypE (inward form)		2Z1F	on hold		同上	同上
高度好熱菌由来キノン還元酵素		1IZ0	Released	2003-07-15	キノン還元酵素とその NADPH 複合体の結晶構造を決定した . これらの結果から、本酵素が NADPH を選択的に結合する構造基盤を明らかにした . また、比較的小さい基質しか結合・還元しないことも示した .	なし
高度好熱菌由来キノン還元酵素		1IYZ	Released	2003-07-15	同上	なし
ラット由来ヘムオキシゲナーゼ (N ₃ 結合型)		1IVJ	Released	2002-12-11	ヘムオキシゲナーゼ-ヘム複合体に N ₃ を結合させた結晶構造を決定した . N ₃ のヘム鉄への結合様式から、基質である酸素分子がヘムの 1 位を特異的に水酸化する機構を明らかにした . また、ヘム近傍の水分子の配置	なし

ラット由来ヘムオキシゲナーゼ(CO, CN ⁻ , NO 結合型)	IIX3	Released	2003-09-02	を基に、酸素分子をプロトン化する機構を提唱した。ヘムオキシゲナーゼ-ヘム複合体にCO, CN ⁻ , NOを各々結合させた結晶構造を決定した。COとCN ⁻ はヘム面に對して垂直に, NOは斜に結合し, COやCN ⁻ が結合するするとヘム近傍に大きな構造変化が見られた。これらの構造情報に基づき, 本酵素が基質(O ₂)と生成物(CO)を識別し, 生成物阻害を回避する機構を明らかにした。	なし
ラット由来ヘムオキシゲナーゼ(CO, CN ⁻ , NO 結合型)	IIX4	Released	2003-09-02	同上	なし
ラット由来ヘムオキシゲナーゼ(CO, CN ⁻ , NO 結合型)	IJO2	Released	2003-09-02	同上	なし
ラット由来ヘムオキシゲナーゼ(ピリベルジン-鉄結合型)	IJC	Released	2003-09-02	ヘムオキシゲナーゼ-ヘム複合体を結晶状態で反応させ, ピリベルジン-鉄結合型の構造を結晶学的に捉えた。ヘムの開裂反応後の構造から, 生成物である鉄とピリベルジンが, 酵素分子から順次遊離する構造基盤を示した。	なし
ラット由来還元型ヘム-ヘムオキシゲナーゼ	IUBB	Released	2003-09-02	ヘムの酸化還元状態の違いによるヘム鉄の配位構造の変化を明らかにした。これにより本酵素の構造・性質の関係を明らかにした。	なし
高度高熱菌由来 ATP スルフリラ-ゼ	IV47	Released	2004-04-06	これまでに例の無い亜鉛イオンを結合していた。金属イオンの配位は熱安定性に寄与すると考えられ, 熱安定化に対する分子設計に指針を与えた。	なし

CO-ヘム-ヘムオキシゲナーゼ (光解離)	IULX	Released	2004-08-31	レーザー光により、ヘム鉄からCOが遊離し、酵素分子の疎水キヤビティに捕らえられることを実験的に示した。これにより本酵素が持つO ₂ とCOの識別能の構造基盤を得た。	なし
CO-ヘム-ヘムオキシゲナーゼ (Xe結合型)	IVGI	Released	2004-08-31	Xe (貴ガス) が、酵素分子中のCOと同じ部位に入ることを実験的に証明した。	なし
ラン藻由来ヘム-ヘムオキシゲナーゼ-1	IWE1	Released	2004-12-21	ラン藻では、この酵素が関与して光捕集に使われる色素を合成している。これはラン藻由来の最初の解析例で、分子の特徴を明らかにした。生理的電子供与体であるフェレドキシンのとの特異的相互作用を明らかにした。	なし
YfhJ (ORF3)	IUI8	Released	2005-02-15	このタンパク質は、ISC マシナリーの成分の一つであるが、機能未知であった。立体構造から、鉄硫黄クラスタ-合成系への鉄原子の供与体であると考えられた。	なし
ラン藻由来ヘム-ヘムオキシゲナーゼ-2	IWOV	Released	2005-03-22	ラン藻由来のヘムオキシゲナーゼ-2とヘムとの複合体 (酸化型と還元型) およびそのNO結合型の構造を決定した。構造の特徴およびリガンドのヘム鉄への結合様式を明らかにした。	なし
ラン藻由来ヘム-ヘムオキシゲナーゼ-2	IWOW	Released	2005-03-22	同上	なし
ラン藻由来ヘム-ヘムオキシゲナーゼ-2	IWOX	Released	2005-03-22	同上	なし
Photoactive yellow protein E46Q mutant	IUGU	Released	2004-08-10	Photoactive yellow protein の E46Q ミュータントの構造を原子分解能で決定し、変異による pKa, 光反応サイ	なし

フェレドキシン/コエンザイム A 複合体	1WTF	Released	2005-11-08	クル, および吸収極大波長の変化は, Glu46 が関与する水素結合の強さによって説明することができた. Bacillus thompsonii のフェレドキシンは通常 [4Fe-4S] クラスターを持っているが, [3Fe-4S] クラスターを保持することをはじめて明らかにした. 本フェレドキシンとコエンザイム A の結合様式を明らかにした. コエンザイム A の鉄硫黄クラスター生成への関与を示唆した.	なし
メチル基転移酵素 (BchU)	1X19	Released	2006-07-18	BchU はバクテリオクロロフィル c の生成に関与する酵素で, S-アデノシルメチオニンのメチル基をクロリン環の 20 位へ転移させる反応を触媒する. 本酵素および様々な基質との複合体の結晶構造を決定した. これらの構造から, 触媒に関与するアミノ酸残基を同定すると共に, 反応機構を提唱した.	なし
メチル基転移酵素 (BchU)	1X1A	Released	2006-07-18	同上	なし
メチル基転移酵素 (BchU)	1X1B	Released:	2006-07-18	同上	なし
メチル基転移酵素 (BchU)	1X1C	Released	2006-07-18	同上	なし
メチル基転移酵素 (BchU)	1X1D	Released:	2006-07-18	同上	なし
大腸菌由来 SufA タンパク質	2D2A	Released	2005-12-13	Suf マシ - ナリ - の成分である SufA の結晶構造を決定した. SufA は IscA とよく似た 3 次構造をとっていたが, 4 次構造が大きく異なっていた. SufA では, IscA で見	なし

				えていなかった活性に必須のシステイン残基の位置も同定でき、二量体で鉄硫黄クラスタ-または鉄原子を配位するのに適した構造であった。	
大腸菌由来 SufC タンパク質	2D3W	Released	2006-01-17	Suf マシ - カリ - の成分である SufC の構造を決定した。SufC は ABC トランスポ - タ - ATPase ドメインとよく似たフォールディングをとっていたが、ヌクレオチドを結合するアミノ酸のコンフォメ - ション等に違いが見られた。構造情報や機能を総合して、ATPase 活性が SufB や SufD との相互作用により制御されうること提案した。	なし
フェレドキシン依存性 ピリン環元酵素 (PcyA)	2D1E	Released	2006-01-24	PcyA はフェレドキシンの還元力を利用してビリベルジンを還元し、光合成色素(ピリン)を合成する。PcyA とビリベルジンとの複合体の結晶構造を高分解能で決定した。PcyA は新規な $\alpha/\beta/\alpha$ サンドイッチ構造をとっており、U 字型コンフォメ - ションをとった基質を正確に認識している様子が明らかになった。この構造を基に、PcyA とフェレドキシンの認識、および制御された 2 段階反応の機構を提唱した。	なし
γ -グルタミルトランスベプチダーゼ (GGT)	2DBU	Released	2006-04-18	GGT はグルタチオンの代謝を触媒し、ヒト由来の酵素は健康診断の γ -GTP 測定で用いられている。本酵素は一本のポリペプチドとして翻訳されるが、自己触媒的にプロセスされて、2 本のポリペプチドになって活性型となる。本酵素の新規な構造と反応機構の詳細を経時的に明らかにしただけでなく、プロセッシングに高次構造変化が伴うことも明らかにした。	なし
γ -グルタミルトランスベ	2DBW	Released	2006-04-18	同上	なし

プチダーゼ (GGT)								
γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)	2DBX	Released	2006-04-18	同上	なし			
γ -グルタミルトランスペプチダーゼ (GGT)	2DG5	Released	2006-04-18	同上	なし			
PcyA (free)	2DKE	Released	2006-07-25	光合成色素合成酵素 PcyA の構造を決定し、これと PcyA-ピリベルジン複合体と比較した。ピリベルジンの結合に伴い基質結合部位の近傍に構造変化がみられ、これによりこの領域の表面電荷がより鮮明に正電荷を帯びるようになった。	なし			
γ -Glutamyltranspeptidase (T391A precursor mutant protein)	2E0W	Released	2006-11-28	γ -グルタミルトランスペプチダーゼの前駆体の T391A 変異体は自己触媒能が無く、大小 2 つのサブユニットからなる酵素に成熟化しない。T391A の構造から、プロセッシングに伴う大きな構造変化が明らかになり、基質結合部位がいかに形成されるかが具体的に示された。	なし			
γ -Glutamyltranspeptidase (monoclinic form)	2E0X	Released	2006-11-28	γ -グルタミルトランスペプチダーゼの単斜晶系の結晶構造を決定した。この結果から基質が結合していない状態では ,lid-loop がフレキシブルであることが実証された。	なし			
γ -Glutamyltranspeptidase (samarium derivative)	2E0Y	Released	2006-11-28	γ -グルタミルトランスペプチダーゼのサマリウム誘導体の結晶構造を決定した。サマリウムイオンは基質結	なし			

Heme oxygenase (イミダゾールジオキソレン化合物結合型)	2DY5	on hold		台ポケットに結合しており, lid-loop が disorder していた. イミダゾールジオキソレン化合物を合成し, これとヘムオキシゲナーゼとの複合体の結晶構造を決定した. この化合物はヘムの遠位側に結合し, そのイミダゾール基がヘム鉄に, クロロフェニル基が疎水ポケットに結合していた. この化合物は2つのアインザイム(HO-1とHO-2)の両方に対して, ベルドヘム生成以降の反応を完全に阻害した.	なし
メチル基転移酵素 CbiL (apo 型)	2E0K	Released	2007-01-16	ビタミン B ₁₂ の生合成に関与する酵素CbiLの X線結晶解析から, 2 つのサブユニットからなるこの酵素の構造を決定した. 各サブユニットは2つのドメインからなり, クラスIIIメチル基転移酵素と構造が類似していた.	なし
メチル基転移酵素 CbiL (SAH 結合型)	2E0N	Released	2007-01-16	2 つのドメインの間にあるクレフトに S-adenosylhomocysteine が結合していることを明らかにした. さらに, もうひとつの基質である cobalt factor II の結合様式を推定し, 活性に関与するアミノ酸残基を予想した.	なし
Arthromyces ramosus peroxidase (CN 結合型)	2E39	Released	2007-03-20	本ペルオキシダーゼ中のヘム鉄に, CN ⁻ はヘム面に対してほぼ垂直に結合し, その窒素原子は遠位側にある His56 と水素結合していることを明らかにした.	なし
Arthromyces ramosus peroxidase (NO 結合型)	2E3A	Released	2007-03-20	本ペルオキシダーゼ中のヘム鉄に, NO は bent form で結合し, その酸素原子とアミノ酸残基との間に強い相相互作用は無かった.	なし

Arthromyces ramosus peroxidase (hydroxylamine 結合型)	2E3B	Released	2007-03-20	本ペルオキシダーゼ中のヘム鉄に、ヒドロキシルアミンは bent mode で結合し、これと酵素分子との間に目立った相互作用はみられなかった．	なし
heme oxygenase (CN bent form)	2E7E	on hold		CNはヘムに通常垂直に結合するが、ヘムオキシゲナーゼ中のヘムには、pH が中性だと bent mode で結合することをみつけた．また、bent mode で結合したCNは光解離しやすいことも示した．	なし
グリシニン 6 量体	IOD5	Released	2003-06-02	ダイズグリシニン 6 量体の構造を初めて明らかにし、 β_3 量体から 6 量体への構造変化の仮説を提出した．	ダイズタンパク質の分子設計、農業、食品工業（予定）
コングリシニン α' コア	IUIK	Released	2004-07-16	ダイズコングリシニン α' コアの構造を明らかにし、コングリシニン β との構造比較を行った．	ダイズタンパク質の分子設計、農業、食品工業（予定）
プログリシニン変異体	IUCX	Released	2004-02-03	ダイズプログリシニンの安定性に関する変異体 (C12G) の構造	ダイズタンパク質の分子設計、農業、食品工業（予定）
プログリシニン変異体	IUDI	Released	2004-02-03	ダイズプログリシニンの安定性に関する変異体 (C88S) の構造	ダイズタンパク質の分子設計、農業、食品工業（予定）
ダイズ β -アミラーゼ変異体	IUKO	Released	2004-02-10	ダイズ β -アミラーゼの表面残基を変異し、結晶内の分子配置と晶系を変更した．	タンパク質工学
ダイズ β -アミラーゼ変異体	IUKP	Released	2004-02-10	ダイズ β -アミラーゼの表面残基を変異し、結晶内の分子配置と晶系を変更した．	タンパク質工学
ダイズ β -アミラーゼ変異体	IV3H	Released	2004-06-22	ダイズ β -アミラーゼの活性中心の変異体、E186Q と基質との複合体の解析を行った．	タンパク質工学
ダイズ β -アミラーゼ変異体	IV3I	Released	2004-06-22	ダイズ β -アミラーゼの活性中心の変異体、E380Q と生成物との複合体の解析を行った．	タンパク質工学

ダイズβ-アミラーゼ変異体	IQ6C	Released	2004-02-24	ダイズβ-アミラーゼ Wild タイプと生成物との複合体の解析を行った。	タンパク質工学
ダイズβ-アミラーゼ変異体	IQ6D	Released	2004-02-24	ダイズβ-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 M51T とマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	IQ6E	Released	2004-02-24	ダイズβ-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 E178Y とマルトースとの複合体の構造解析を pH5.4 で行った。	食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	IQ6F	Released	2004-02-24	ダイズβ-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 E178Y とマルトースとの複合体の構造解析を pH7.1 で行った。	食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	IQ6G	Released	2004-02-24	ダイズβ-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 N340T とマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
微生物β-アミラーゼ変異体	IVEM	Released	2005-05-24	微生物β-アミラーゼとマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
微生物β-アミラーゼ変異体	IVEN	Released	2005-05-24	微生物β-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 Y164E とマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
微生物β-アミラーゼ変異体	IVEO	Released	2005-05-24	微生物β-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 Y164F とマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
微生物β-アミラーゼ変異体	IVEP	Released	2005-05-24	微生物β-アミラーゼの至適 pH を変更した変異体 T47M/Y164E/T328N とマルトースとの複合体の構造解析を行った。	食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼアポ型	IWDP	Released	2005-04-05	ダイズβ-アミラーゼのアポ型の 1.27 での構造解析	タンパク質工学, 食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	IWDQ	Released	2005-04-05	ダイズβ-アミラーゼ活性ループの変異体 T342V とマル	タンパク質工学, 食品工業

体					トース複合体の 1.28 での構造解析を行ない、ループの構造変化の重要性を明らかにした。	(予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	1WDR	Released	2005-04-05		ダイズβ-アミラーゼ活性ループの変異体 T342S とマルトース複合体の 1.35 での構造解析、ループの構造変化の重要性を明らかにした。	タンパク質工学, 食品工業 (予定)
ダイズβ-アミラーゼ変異体	1WDS	Released	2005-04-05		ダイズβ-アミラーゼ活性ループの変異体 T342A の 1.64 での構造解析、ループの構造変化の重要性を明らかにした。	タンパク質工学, 食品工業 (予定)
緑豆グロブリン	2CV6	Released	2006-06-27		緑豆 (マングビーン) の 8S グロブリンの構造を決定し、コングリシニンと比較した。	種子タンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
カボチャグロブリン	2EVX	Released	2006-11-14		カボチャ種子グロブリンの構造を決定し、ダイズのブログリシニンと構造比較した。	種子タンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
ダイズ成熟型グリシニン(A3B4 サブユニット)	2D5F	Released	2006-11-14		ダイズ成熟型グリシニン(A3B4 サブユニット)の凍結結晶の構造を決定した。	ダイズタンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
ダイズプログロブリン(A3B4 サブユニット)	2D5H	Released	2006-11-14		3 量体のダイズプログロブリン(A3B4 サブユニット)の構造を決定し、6 量体の成熟型グリシニンの構造と比較した。	ダイズタンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
アズキグロブリン-1(三量体, 1.8 Å)	2EA7	on hold			アズキグロブリン-1の構造を 2.25 Å 分解能で決定し、ダイズコングリシニンの構造と比較した。	種子タンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
アズキグロブリン-3(三量体, 2.25 Å)	2EAA	on hold			アズキグロブリン-3の構造を 1.8 Å 分解能で決定し、アズキ 1-およびダイズコングリシニンの構造と比較した。	種子タンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
カボチャグロブリン(三量体, 2.1 Å)	2E9Q	on hold			カボチャプロレグミン(三量体)の構造を 2.1 Å 分解能で精密化した。	種子タンパク質の分子設計, 農業, 食品工業 (予定)
大腸菌由来タンパク質	1I29	Released	2003-07-01		鉄硫黄クラスタ形成関連酵素の相同タンパク質でシ	この系に関わるタンパク質

CsdB-自爆基質 Propargylglycine 複合体				ステインから硫酸を解離させてクラスタ形成に提供する生物学的に重要なタンパク質で、このタンパク質の反応機構解明の基盤となる構造情報を得た。	機能の異常を起ささないような機能調節薬の調製に役立つ可能性がある。
<i>Bacillus</i> sp. YM55-1 由来 アスパルターゼ	1J3U	Released	2003-05-06	フマル酸からアスパラギン酸の合成を触媒する酵素である。高活性・耐熱性アスパルターゼの最初の構造決定により、アスパラギン酸のバイオマス生産での反応性向上を目指したタンパク質工学設計用の構造情報を提供することができた。	将来的には、アスパラギン酸のバイオマス生産性向上への寄与が可能となることが考えられる。
アメリカヤマゴボウ根 茎由来レクチン D2-糖鎖複合体	IULM	Released	2003-12-23	天然では数少ないリンパ球の有糸分裂促進活性を持つレクチンと糖鎖との複合体の解析で、この解析によりタンパク質と糖鎖間の詳細な相互作用様式を明らかにした。	将来的には、生体防御に関わる創薬のための構造情報となることが期待される。
アメリカヤマゴボウ根 茎由来レクチン C	IULK	Released	2003-12-23	アメリカヤマゴボウから抽出されるタンパク質で、糖鎖を結合する能力はないがマイトジェン活性を示す二量体タンパク質である。特異なサブユニット間相互作用であるキチン結合ドメイン間の分子内相互作用の新規様式を解明し、タンパク質-糖鎖間相互作用を擬態したタンパク質-タンパク質間相互作用を明らかにした。	糖鎖構造を擬態するタンパク質構造は、ドラッグデザインの基礎情報となるものである。
アメリカヤマゴボウ根 茎由来レクチン D1	IULN	Released	2004-04-13	D2と比較して、糖鎖は結合するがリンパ球の有糸分裂促進能を欠損したレクチンで、その機能発現の基盤となる構造情報を得た。	この種の他のレクチンの構造情報と共に生体防御機能を調節する薬剤創製に寄与する可能性がある。
アメリカヤマゴボウ根 茎由来レクチン D2	IUHA	Released	2004-04-13	D1と比較して、リンパ球の有糸分裂促進能を保持するレクチンとしての構造情報を得た。	この種の他のレクチンの構造情報と共に生体防御機能

酵母由来カルボキシペプチダーゼ Y とその阻害剤タンパク質 I ^C の複合体	1WPX	Released	2005-03-01	酵母由来カルボキシペプチダーゼ Y のタンパク質性阻害剤 I ^C であるが、生体内情報伝達に関わるキナーゼの機能制御にも関わるタンパク質である。両タンパク質複合体の構造決定により構造未決定の I ^C の構造、これまでの阻害剤のような C 末端ではなく N 末端 7 残基による複合体形成機構および酵素機能阻害機構が開明できた。これにより I ^C の多機能性の開明へと繋がる。	これを調節する薬剤創製に寄与する可能性がある。
トリプトファン合成酵素 α サブユニット	1V7Y	Released	2005-02-15	複合体形成時との構造変化を探るため α サブユニット単独での解析を行い、活性増幅機構を考察する。	なし
20S プロテアソーム	1IRU	Released	2002-05-22	牛肝臓 20S プロテアソームの全体構造を解析し、多機能タンパク質分解酵素活性と高次構造形成の関係を考察する。	なし
トリプトファン合成酵素 α サブユニット	1WQ5	Released	2005-02-15	複合体形成時との構造変化を探るため α サブユニット単独での解析を行い、活性増幅機構を考察する。	なし
トリプトファン合成酵素 β サブユニット	2DH6	Released	2007-04-24	複合体形成時との構造変化を探るため β サブユニット単独での解析を行い、活性増幅機構を考察する。	なし
乳酸酸化酵素 野生型	2DU2	Released	2006-12-05	乳酸酸化酵素の 4 量体構造を明らかにし、補酵素および周辺アミノ酸による厳密な DL 基質認識機構を考察する。	なし
MAP-LC3	1V49	Released	2004-12-28	オートファジーに関与するタンパク質であり、オートファジーの異常はアルツハイマー病やパーキンソン病にも関与している。	なし
S100C N-terminal peptide	1V4Z	Released	2005-03-22	S100C タンパク質の N 末端領域のペプチドであり、細	なし

S100C N-terminal peptide	1V50	Released	2005-03-22	胞成長抑制・分化促進作用を示す．	同上	同上
GABARAP	1KLV	Released	2003-10-07	神経伝達物質 GABA の受容体である GABA _A 受容体の $\gamma 2$ subunit と結合し, GABA _A 受容体の trafficking や clustering の役割を担っている．	なし	なし
GABARAP	1KM7	Released	2003-10-07	同上	同上	なし
Epiregulin	1K36	Released	2003-09-30	マクロファージや胎盤で発現している成長因子であり, ErbB-1, ErbB-4 レセプターに結合する．	なし	なし
Epiregulin	1K37	Released	2003-09-30	同上	同上	なし
Paralytic peptide, Bombyx mori	1IRR	Released	2003-02-11	カイコ由来のペプチドであり, 成長抑制活性や麻痺活性を有する．	なし	なし
H, K-ATPase N-terminal fragment	1IWC	Released	2002-11-27	ブタ胃 H ⁺ /K ⁺ ATPase α 鎖の N 末端ペプチドである．	なし	なし
H, K-ATPase N-terminal fragment	1IWF	Released	2002-11-27	同上	同上	なし
Betacellulin	1IOX	Released	2002-07-24	すい臓で主に発現している成長因子で ErbB-1, ErbB-4 レセプターに結合しシグナル伝達を行う．	なし	なし
Betacellulin	1IPO	Released	2002-07-24	同上	同上	なし
Tachystatin A	1CIX	Released	2002-05-01	カプトガニ由来のペプチドでグラム陽性菌, グラム陰性菌, 菌類に対して抗菌活性を示す．	なし	なし
Big defensin	2AXS	on hold		カプトガニ由来の抗菌ペプチドであり, グラム陽性菌, グラム陰性菌に対して別々のドメインが抗菌活性を示す．	なし	なし
Diapause-specific peptide	2E2F	on hold		41 残基からなるペプチドであり, Ca ²⁺ チャネルプロトカー機能と抗菌活性を有するユニークなペプチドである	なし	なし

Tachystatin B1	2DCV	Released	2007-01-23	る。 カプトガニ由来の抗菌ペプチドであり、グラム陽性菌、真菌類に対して強力な抗菌活性を示す。	なし
Tachystatin B2	2DCW	Released	2007-01-23	Tachystatin B1 の同種ホモログペプチドであり、グラム陽性菌、真菌類に対して強力な抗菌活性を示す抗菌ペプチドである。	なし
変異 DNA polymerase	1WN7	Released	2005-08-02	PCR 用酵素の構造と機能に関する知見が得られた。	本酵素は既に市販されており、さらなる機能改良への基盤情報が得られた。
RadB recombinase	2CVF	Released	2005-08-09	超好熱菌における RadB の初めての立体構造が明らかとなった。	なし
RadB recombinase	2CVH	Released	2005-08-09	同上	同上
ST689	1WOL	Released	2005-11-22	分子シャペロンの一種であると予想し構造解析を行ったが、分子シャペロンとしての機能は確認されていない。	なし
Thiocyanate Hydratase (Apo)	2DD4	Released	2007-01-30	Thiocyanate Hydratase はチオシアン化物の分解に関わる酵素であり、環境浄化に重要な役割を担っている。同時に工業的に重要な Nitrile Hydratase と類似の反応機構と構造を有している。Apo 及び Native 型の構造は、これらの酵素に共通する活性中心の形成機構の解明に重要である。	なし
Thiocyanate Hydratase (Native)	2DD5	Released	2007-01-30	同上	同上
Thiocyanate Hydratase (immature)	2DXB	on hold		Thiocyanate Hydratase の活性中心の γ Cys133 が Cys-SOH に酸化されて活性化される前と活性化後の構	なし

Thiocyanate Hydratase (in vitro matured)	2DXC	on hold			造．Nitrile Hydratase グループの活性中心形成機構解明に重要な構造である．	
Aspartate Racemase complex with a substrate analogue	2DX7	on hold			同上	同上
ATPase domain of FtsH	1IY2	Released	2002-11-06		アスパラギン酸ラセマーゼと基質アナログ(クエン酸)の複合体の構造．反応機構解明につながる．	なし
ATPase domain of FtsH (with ADP)	1IY1	Released	2002-11-06		ATP 依存性膜結合型メタロプロテアーゼの ATPase ドメイン．	なし
ATPase domain of FtsH (with AMP-PNP)	1IY0	Released	2002-11-06		同上	同上
ATPase domain of FtsH (with Hg)	1IXZ	Released	2002-11-06		同上	同上
ClpB	1QVR	Released	2003-08-28		タンパク質凝集体を脱凝集する機能を持つ．	なし
GroEL/ES	1WE3	Released	2004-06-29		変性タンパク質を天然状態に巻き戻す機能を持つ．	なし
GroEL/ES	1WF4	Released	2004-06-29		同上	同上
Whole cytosolic region of FtsH (G399L)	2DHR	Released	2006-06-27		ATP 依存性膜結合型メタロプロテアーゼの細胞質ドメイン	なし
Protease domain of FtsH	2DI4	Released	2006-06-27		ATP 依存性膜結合型メタロプロテアーゼの protease ドメイン．	なし
DsbA-DsbB-ubiquinone complex	2HI7	Released	2006-12-05		大腸菌のタンパク質分子内ジスルフィド結合に直接関わる DsbA とそのリサイクル膜因子 DsbB が会合した「反応中間体」構造を初めて明らかにし、反応機能解	なし

Preprotein SecA subunit	2IPC	Released	2006-11-28	明への極めて重要な知見を得た。 高度高熱菌 <i>T. thermophilus</i> のタンパク質膜透過駆動因子 SecA のこれまでにしれていない新たな 2 量体構造を明らかに、SecA の多様な高次構造形成を示して、その機能的意味についての手がかりを与えた。	なし
カボチャ-グリセロール 3 リン酸アシル基転移酵素 (GPAT)	1IUQ	Released	2003-10-07	グリセロール 3 リン酸アシル基転移酵素 (GPAT) は植物の耐冷性において重要な因子である。本解析および機能解析の結果から、GPAT による植物の温度感受性機構が部分的に解明でき、将来の遺伝子組換え植物への応用が期待される (他グループから同じ時期に同一タンパク質の構造が発表された)。	キリンビール(株)で行った研究であるが、遺伝子組換え植物の利用を前提とするため、キリン社の製品開発方針に合致しないため成果の移転先は未定。
ジオスコレオフィロム・クミンシ- ム・クミンシ- タンパク質 (モネリン)	1IV7	Released	2003-10-07	ジオスコレオフィロム・クミンシ-の果実から抽出される甜味成分 (モネリン) は砂糖の 4,000 倍の甘みがある。モネリンは本来 2 本鎖からなるが、タンパク工学的手法により 1 本鎖化したモネリンの構造決定を行った。1 本鎖モネリンは安価に供給可能な人口甘味料として、ダイエット食品等への応用が期待できる。(変異体構造)	キリンビール(株)で行った研究であるが、ラッキ-バイオテック社 (韓国企業) の方が同様の分子を先に特許化したため産業移転は不明である。
ジオスコレオフィロム・クミンシ- タンパク質 (モネリン)	1IV9	Released	2003-10-07	同上	同上
ヒト-巨核球増殖分化因子 (リガンド) / マウス-抗体 (Fab 領域)	1V7M	Released	2004-03-02	ヒト-巨核球増殖分化因子 (リガンド) は、極めて重要なタンパク質医薬品として開発が期待されている。しかしながら臨床開発の段階で抗原性の問題が明らかとなった。その解決法を構造解析情報から探ってきた。本解析は-巨核球増殖分化因子の世界初の構造解析であると共に、重原子法に寄らず抗体分子だけをを用いて新規タンパク質の位相付けに成功した初めての構造解析例である (新規タンパク質だが既知の構造モチーフに所属)。	キリンビール(株)構造情報をを用いてリガンドの高機能化は充分可能である。また立体構造を用いて抗原性の低減の可能性を模索したが、実際には人体での抗原性低下の証明が必要なので、構造を開示することにした。

ヒト-巨核球増殖分化因子(リガンド) / マウス-抗体(Fab 領域)	1V7N	Released	2004-03-02	同上	同上
顆粒球コロニー刺激因子およびその受容体	2D9Q	Released	2006-02-07	顆粒球コロニー刺激因子受容体の構造は、サイトカイン受容体相同性領域だけが部分的に解析されていたが、今回決定した構造はリガンドと受容体が 2:2 の複合体を形成している活性型構造である点が重要である。リガンドと受容体の相互作用が詳細に明らかとなった。この構造情報はペプチド性サイトカインミネテイクスや低分子ミネテイクスの創成研究に有効であると考えられる。	キリンビール(株)との共同研究 立体構造情報を移管した。構造情報を用いて低分子ミネテイクスの創成研究を共同で実施中。GCSF 医薬品の市場は約 450 億円であるが低分子医薬品の創製は極めて難度の高い研究であるが、現在の市場を置き換える可能性もある。
ヒト変異型 RNase1(4L: T24L, Q28L, R31L, R32L)	2E0M	on hold		分子対称性創出による結晶化法の開発研究において作製した変異体。ヒト RNase1 の第二ヘリックスにロイシンジッパー様配列(4残基のロイシン)を導入した。	他の創薬標的タンパク質に結晶化配列を導入し、効果を検証する予定。
ヒト変異型 RNase1 (3L: Q28L, R31L, R32L)	2E0L	on hold		同上 ヒト RNase1 の第二ヘリックスにロイシンジッパー様配列(3残基のロイシン)を導入した。	同上
ヒト変異型 RNase1 (2L: R31L, R32L)	2E0J	on hold		同上 ヒト RNase1 の第二ヘリックスにロイシンジッパー様配列(2残基のロイシン)を導入した。	同上
ヒト変異型 RNase1 (N4L: V52L, D53L, N56L, F59L)	2E0O	on hold		同上 ヒト RNase1 の第三ヘリックスにロイシンジッパー様配列(4残基のロイシン)を導入した。	同上
Tachyplesin I	1W00	Released	2005-08-09	Tachyplesin I はカプトガニ由来抗菌ペプチドであり、グラム陽性菌、グラム陰性菌、HIV ウイルス等に対して高い抗菌活性、抗ウイルス活性を示す。	なし
Tachyplesin I	1W01	Released	2005-08-09	同上	同上
Fe65 protein WW domain	2E45	Released	2006-12-26	Fe65 タンパク質はアミロイドβ前駆体、タウ、Mena に	なし

Dynein light chain DNLC2A	2E8J	on hold			結合するタンパク質である．立体構造と機能の解明はアルツハイマー病の発症機構の解明に重要である．軸策輸送を担う dynein の構成サブユニットであり，dynein 本体とカーゴの結合を調節している．軸策輸送の解明に重要なタンパク質である．	なし
<i>Trypanosoma cruzi</i> のジヒドロオロト酸脱水素酵素（コハク酸結合型）	2DJL	on hold			本酵素は，南米でシャーガス病を引き起こす寄生虫 <i>Trypanosoma cruzi</i> のピリミジン合成経路において，ジヒドロオロト酸の酸化と共役してフマル酸をコハク酸に還元する．この研究は構造・機能相関の解明と，ヒトとは異なるファミリーに属している本酵素の立体構造をもとに，抗寄生虫薬開発のためのリード化合物を見出すことを目的とする．そのために，native 体，基質（ジヒドロオロト酸とフマル酸），生成物（オロト酸とコハク酸）ならびに阻害剤（オキシソニン酸）との複合体構造を決定した．これらの構造から，従来推定されていた反応機構が誤りであることが分かった．また，オキシソニン酸と相互作用しているアミノ酸残基に，哺乳類との違いを見出すことができた．	阻害剤オキシソニン酸は，活性部位に結合する競合阻害剤で，ヒトの酵素にも結合する．寄生虫 <i>Trypanosoma cruzi</i> のジヒドロオロト酸脱水素酵素を特異的に阻害することが期待できる非競合阻害剤を見出すために，化合物ライブラリーから探索をスタートした．そのような化合物が発見できれば，X線解析による複合体構造の解明，計算機科学や合成化学の技術，生化学的知見と合わせて新たなリード化合物の創成を目指し，南米におけるシャーガス病の治療薬創成に寄与する．
<i>Trypanosoma cruzi</i> のジヒドロオロト酸脱水素酵素	2DJX	on hold			同上	同上

<i>Trypanosoma cruzi</i> のジ ヒドロオロト酸脱水素 酵素（ジヒドロオロト酸 結合型）	2E68	on hold		同上	同上
<i>Trypanosoma cruzi</i> のジ ヒドロオロト酸脱水素 酵素（オロト酸結合型）	2E6A	on hold		同上	同上
<i>Trypanosoma cruzi</i> のジ ヒドロオロト酸脱水素 酵素（オキソン酸結合 型）	2E6F	on hold		同上	同上
<i>Trypanosoma cruzi</i> のジ ヒドロオロト酸脱水素 酵素（フマル酸結合型）	2E6D	on hold		同上	同上

2. 主要な論文リスト

1. Watanabe S, Matsumi R, Arai T, Atomi H, Imanaka T, Miki K, Crystal structures of [NiFe] hydrogenase maturation proteins, HypC, HypD, and HypE provide insights into the cyanation reaction by thiol redox signaling, *Mol. Cell* in press (2007). PDB ID: 2Z1C, 2Z1D, 2Z1E, 2Z1F
2. Sato T, Atomi H, Imanaka T, Archaeal Type III Rubiscos function in a pathway for AMP metabolism. *Science*, **315**, 1003-1006 (2007).
3. Nadanaka S, Okada T, Yoshida H, Mori K, Role of disulfide bridges formed in the luminal domain of ATF6 in sensing endoplasmic reticulum stress. *Mol. Cell. Biol.*, **27**, 1027-1043 (2007).
4. Okada T, Suzuki H, Wada K, Kumagai H, Fukuyama K, Crystal structures of γ -glutamyltranspeptidase from *Escherichia coli*, a key enzyme in glutathione metabolism, and its reaction intermediate, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 6471-6476 (2006). PDB ID: 2DBU, 2DBW, 2DBX, 2DG5
5. Suno R, Niwa H, Tsuchiya D, Zhang X, Yoshida M, Morikawa K, Structure of the whole cytosolic region of ATP-dependent protease FtsH, *Mol. Cell* **22**, 575-585 (2006). PDB ID: 2DHR, 2DI4
6. Kitamura A, Kubota H, Paek CG, Matsumoto G, Hirayama S, Takahashi Y, Kimura H, Kinjo M, Morimoto R, Nagata K, Cytosolic chaperonin prevents polyglutamine toxicity with altering the aggregation state, *Nature Cell Biol.* **8**, 1163-1169 (2006).
7. Kubota S, Kubota H, Nagata K, Cytosolic chaperonin protects folding intermediates of G β from aggregation by recognizing hydrophobic β -strands, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 8360-8365 (2006).
8. Tamada T, Honjo E, Maeda Y, Okamoto T, Ishibashi M, Tokunaga M, Kuroki R, Homodimeric cross-over structure of the human granulocyte colony-stimulating factor (GCSF) receptor signaling complex, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **103**, 3135-3140. (2006). PDB ID: 2D9Q
9. Inaba K, Murakami S, Suzuki M, Nakagawa A, Yamashita E, Okada K, Ito K, Crystal structure of the DsbB-DsbA complex reveals a mechanism of disulfide bond generation, *Cell* **127**, 789-801 (2006). PDB ID: 2HI7
10. Mori H, Ito K, Different modes of SecY-SecA interactions revealed by site-directed *in vivo* photo-crosslinking, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 16159-16164 (2006).
11. Muto H, Nakatogawa H, Ito K, Genetically encoded but non-polypeptide prolyl-tRNA functions in the A-site for SecM-mediated ribosomal stall, *Mol. Cell* **22**, 545-552 (2006).
12. Setoguchi K, Otera H, Mihara K, Cytosolic factor- and TOM-independent import of C-tail-anchored mitochondrial outer membrane proteins, *EMBO J.* **25**, 5635-5647 (2006).
13. Kida Y, Mihara K, Sakaguchi M, Translocation of a long amino-terminal domain through ER membrane mediated by following signal-anchor sequence, *EMBO J.* **24**, 3202-3213 (2005).

14. Numoto N, Nakagawa T, Kita A, Sasayama Y, Fukumori Y, Miki K, Structure of an extracellular giant hemoglobin of the gutless bearded worm *Oligobranchia mashikoi*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 14521-14526 (2005). PDB ID: 2D2M, 2D2M
15. Kouno T, Mizuguchi M, Tanida I, Ueno T, Kanematsu T, Mori Y, Shinoda H, Hirata M, Kominami E, Kawano K, Solution structure of MAP-LC3 and identification of its functional subdomains, *J. Biol. Chem.* **280**, 24610-24617 (2005). PDB ID: 1V49
16. Shimamura T, Koike-Takeshita A, Yokoyama K, Masui R, Murai N, Yoshida M, Taguchi H, Iwata S, Crystal Structure of the Native Chaperonin Complex from *Thermus Thermophilus* Revealed Unexpected Asymmetry at the cis-Cavity, *Structure* **12**, 1471-1480 (2004). PDB ID: 1WE3, 1WV4
17. Zeng L, Lu M, Mori K, Luo S, Lee AS, Zhu Y, Shyy JYJ, ATF6 modulates SREBP2-mediated lipogenesis, *EMBO J.* **23**, 950-958 (2004).
18. Sriburi R, Jackowski S, Mori K, Brewer JW, XBP1: a link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis and biogenesis of the endoplasmic reticulum, *J. Cell Biol.* **167**, 35-41 (2004).
19. Akiyama Y, Kanehara K, Ito K, RseP (YaeL), an *Escherichia coli* RIP protease, cleaves transmembrane sequences, *EMBO J.* **23**, 4434-4442 (2004).
20. Murakami A, Nakatogawa H, Ito K, Translation arrest of SecM is essential for the basal and regulated expression of SecA, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 12330-12335 (2004).
21. Feese MD, Tamada T, Kato Y, Maeda Y, Hirose M, Matsukura Y, Shigematsu H, Muto T, Matsumoto A, Watarai H, Ogami K, Tahara T, Kato T, Miyazaki H, Kuroki R, Structure of the receptor-binding domain of human thromboietin determined by complexation with a neutralizing antibody fragment, *Proc Natl Acad Sci USA* **101**, 1816-1821 (2004). PDB ID: 1V7M, 1V7N
22. Shomura Y, Yoshida T, Iizuka R, Maruyama T, Yohda M, Miki K, Crystal Structures of the Group II Chaperonin from *Thermococcus* strain KS-1: Steric Hindrance by the Substituted Amino Acid, and Inter-subunit Rearrangement between Two Crystal Forms, *J. Mol. Biol.* **335**, 1265-1278 (2004). PDB ID: 1Q2V, 1Q3Q, 1Q3R, 1Q3R
23. Lee S, Watanabe YH, Sigler PB, Chiu W, Yoshida M, Tsai FT, The Structure of ClpB: A Molecular Chaperone that Rescues Proteins from an Aggregated State, *Cell* **115**, 229-240 (2003). PDB ID: 1QVR
24. Ishii D, Kinbara K, Ishida Y, Ishii N, Okochi M, Yohda M, Aida T, Chaperonin-mediated stabilization and ATP-triggered release of semiconductor nanoparticles, *Nature* **423**, 628-632 (2003).
25. Oda Y, Hosokawa N, Wada I, Nagata K, EDEM As an Acceptor of Terminally Misfolded Glycoproteins Released from Calnexin, *Science* **299**, 1394-1397 (2003).
26. Takeda K, Miyatake H, Yokota N, Matsuyama S, Tokuda H, Miki K, Crystal structures of bacterial lipoprotein localization factors, LolA and LolB, *EMBO J.* **22**, 3199-3209 (2003). PDB ID: 1IWL, 1UA8, 1IWN, 1IWN
27. Kanehara K, Ito K, Akiyama Y, YaeL proteolysis of RseA is controlled by the PDZ domain of YaeL and a Gln-rich region of RseA, *EMBO J.* **22**, 6389-6398 (2003).

28. Matsumoto N, Tamura S, Fujiki Y, The pathogenic peroxin Pex26p recruits the Pex1p-Pex6p AAA ATPase complexes to peroxisomes, *Nat. Cell Biol.* **5**, 454-460 (2003).
29. Adachi M, Kanamori J, Masuda T, Yagasaki K, Kitamura K, Mikami B, Utsumi S, Crystal structure of soybean 11S globulin: Glycinin A3B4 homohexamer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**, 7395-7400 (2003). PDB ID: 1OD5
30. Masuda K, Matsuyama S, Tokuda H, Elucidation of the function of lipoprotein-sorting signals that determine membrane localization, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**, 7390-7395 (2002).