

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1	Parkin	ubiquitin-like domain	1IYF	released	2003.3.25	パーキンは常染色体劣性遺伝子のパーキンソン症候群の原因遺伝子parkinの産物であり、ユビキチンリガーゼとして機能している。パーキンのN末端ドメイン(Ubl)は2つのアルファヘリックスと5つのベータストランドから構成されており、ユビキチンフォールドを形成していることが明らかとなった。さらに、パーキンはそのUblを用いてプロテアソームと結合することにより、細胞内で不要となったタンパク質のユビキチン修飾と分解とがカップルした効率的なタンパク質処理システムを実現していることが判明した。パーキンのプロテアソーム結合部位は若年性パーキンソン病で認められている変異部位(Arg42→Pro)を含んでいることから、この変異が効率的なタンパク質分解システムを破綻させ、神経細胞内の基質の異常な蓄積を引き起こしてパーキンソン病の発症に至るというモデルが提唱されている。	
2	putative steroid-binding protein	Cytochrome b5-like Heme/Steroid binding domain	1J03	released	2003.12.16	哺乳類の膜結合型プロゲステロンレセプターの植物ホモログで、機能はまだ解っていない。構造解析から得られた知見が機能解明に貢献することが期待できる。	
3	SH3BGR homologue		1J0F	released	2003.12.2	ダウン症候群は、第21番染色体のトリソミーあるいは転座により、種々の異常をきたす染色体奇形症候群である。その病態は、精神発達や成長の遅滞、先天性心疾患、筋低張、免疫や内分泌および消化器系の異常といった多岐にわたる。21番染色体上の病因遺伝子が検索されたところ、先天性心疾患に関与するとされるChromosome21q22.3からSH3 domain-binding glutamic acid-rich protein(SH3BGR)が同定された。SH3BGRはSH3 binding domainとGlutamic acid domainを有していることから、他の蛋白質と複合体を形成し、転写制御や細胞内情報伝達系に関わっていると考えられる。このSH3BGRのホモログであるSH3BGR like 3の構造解析を行った。その結果、Glutaredoxin(Grx)と類似構造であることが分かった。Grxは電子の伝達機能以外にNF- $\kappa$ BやAP-1の活性を高めることから細胞増殖やアポトーシス抑制に作用すると考えられている。更に、癌細胞においてGrx活性の上昇が見られることから、その関連性が示唆される。SH3BGRはThioredoxinやGlutaredoxinのfamilyとホモロジーが高いがRedoxinとしての活性部位であるCXXCモチーフを有していない。その為、Grxと拮抗するものとして存在している可能性がある。SH3BGR like 3はChromosome1p34.3-35領域で同定されている。癌においてこの領域のヘテロ接合性の消失が報告されていることから、癌との関連性が期待される。	
4	hypothetical 9.1 kDa protein	Ufm1 (ubiquitin-fold modifier 1)	1J0G	released	2003.12.9	本タンパク質はUPF0185ドメインに属し、同じファミリーのタンパク質はC. elegance、マウスとヒトの細胞中に存在していることが明らかになった。構造上は4本のシートと2本のヘリックスによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属し、Rasタンパク質かそのファミリーのタンパク質に結合するRBD(Ras Binding Domain)ドメインとglobule foldから結合サイトと言われる部分のアミノ酸配列、表面電荷までいくつかの共通点を持っていることがわかった。Rasタンパク質に結合する可能性が非常に高いと考えられる。結合サイトを決め、機能を解明する次第に明らかになるだろう。	
5	RF-1 (release factor homologue)	putative peptidyl-tRNA hydrolase domain	1J26	released	2004.6.1	RF-1は翻訳過程で働く終結因子(Release factor、約440残基)に相同性のある170アミノ酸残基からなる全長タンパク質である。真細菌から真核生物まで保存されているがその機能は未知である。今回の構造解析により、終結因子の活性部位(GQQ motif)が配列だけでなくその位置まで終結因子に酷似しており、終結反応を触媒できる可能性が非常に高くなった。一方で、このタンパク質は終結コドンを認識するNIKS motifが存在するドメイン自体をもたないで、このタンパク質の機能はこれまでの経路とは異なる(例えば終止コドンが必要としない)終結過程を行うと考えられる。その活性部位の相同性から第四の終結因子と考えられ(RF-4)、またその保存性の高さから生命を維持する基本的なタンパク質と推測される。終結コドン認識せず翻訳の終結ができるとするならば、ストレス等の通常と異なる反応を受け翻訳を強制終了している可能性がある。非常に重要なタンパク質であると考えられ機能解析とともにその研究・応用分野は広がっていくと想像される。	
6	Intersectin 2 (Kiaa1256)	SH3 domain	1J3T	released	2004.6.15	真核生物の細胞膜で起こるclathrinによって仲介される細胞のエンドサイトーシスは、シナプス小胞の再利用に重要な役割をしている。Intersectin-2はそのエンドサイトーシスに関与するダイナミン(dynamin)に結合するタンパク質であり、clathrinによりコートされた細胞内小胞の形成およびcell antigen receptor(TCR)のエンドサイトーシスの誘導を制御しているものと考えられている。このタンパク質は足場タンパク質で、2つのEH domain、中央にcoil-coil領域、そして最後に5つの連なるSH3 domainというように異なる機能をもつ複数のドメインからなる。今回決定した構造は5つのSH3 domainの中の2番目に相当する。SH3 domainは非常によく研究が進んでいるドメインの一つで、プロリンリッチなアミノ酸配列と相互作用する事がよく知られている。また、最近の研究からIntersectinのSH3ドメイン群は、dynaminやWASP(Wiskott-Aldrich syndrome protein)に結合することが判明している。5つのSH3 domainのうちどのドメインが上記のタンパク質に結合するかは不明であるが、結合実験等を進め個々のドメインの機能が判明することでWiskott-Aldrich症候群に直接寄与する創薬へと結びつけられる可能性がある。その際には、解明された立体構造より結合可能なペプチド配列をin silicoスクリーニング法により予想することや、このドメインに対する標識試薬の設計や変異体の作製を立体構造をもとに行うことが可能となり、一連の構造決定は非常に有益な情報をもたらすと思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
7	hepatoma-derived growth factor related protein	PWWP domain	1N27	released	2003.12.23	肝癌由来増殖因子(HDGF)関連タンパク質HRPはこれまで5種類発見されている。このHRPファミリーには、N末端側にHDGFと非常に高い相同性を示す100残基からなるPWWP domainを含んでいる。今回構造決定したものはHRP-4(26.3 kDa)に存在するPWWP domainである。PWWP domainに関してはこれまでDNAメチル化酵素に存在するPWWP domainが最初にとかれたものだが、PWWP domain family自体非常にアミノ酸配列の保存性が低いファミリーなので、今回構造決定したHRP-4のものと比較することでPWWP domainの基本的な構造が明らかになったと思われる。このドメインは、DNA結合能をもつもの、タンパク質-タンパク質相互作用に関わるものときさまさまな機能を持つものに進化上分岐してきたドメインと推測されている。上記に述べられているようにヒト肝癌で増殖に関連する因子でありこのドメインの構造決定は非常に有益な情報を与えてくれるものと思われる。今回の決定により、HDGFそしてHRPファミリーすべてのPWWP domainの構造は、今回提示した構造と本質的に一致し、明確な相違点は可変loopの配列及び長さのみみられることがわかった。この構造上の相違点が、それぞれのHRP proteinの機能の特異性(例えば相互作用するタンパク質の違い)となっている可能性がある。この点を考慮しそれぞれに特異的に結合する分子を設計することで創薬へとつながる可能性がある。	
8	Eef1B gamma subunit		1PBU	released	2003.7.15	eEF1B $\gamma$ は、翻訳の過程において働く、タンパク質伸長因子eEF1Bを構成するタンパク質の1つである。正確な役割や分子機構は特定されていないが、全ての真核生物に存在し、RNAに結合する働きがあると推測されている。eEF1B $\gamma$ は、2つのtryptophan-resistantドメインがリンカーによって繋がる構造をしていて、NMRによる構造解析でそのドメインの構造を明らかにした。各ドメインはコンタクトレンズの様な構造を持ち、サイズは51x43x32 Å程であった。5本の $\alpha$ ヘリックスと5本の $\beta$ ストランドからなり、表面上に2カ所、負の電荷を帯びたアミノ酸が集合している部分が確認された。観測の環境において、eEF1B $\gamma$ は親水性であり、可溶であった。セントラルドグマのプロセスにおける、主要なタンパク質の一つであるeEF1B $\gamma$ の研究は、学術的研究意義が高く、生命科学のより深い理解の為に重要になると期待される。	
9	Transcription factor TFII-I-beta	GTF2I domain	1Q60	released	2004.11.23	General Transcription factor TFII-I (GTF2I) は基礎転写およびシグナル誘導転写の両方を処理する得的なポリペプチド放出型転写因子である。このタンパク質はその遺伝子配列より35個のエキソンからなり、それらは複数のヘリックス-ループ-ヘリックスドメインとロイシンジッパーモチーフで構成されており、本ドメインに類似した配列がTranscription factor TFII-I上で6回繰り返されることが知られている。ここでは、GTF2I domain (16残基から101残基まで)の立体構造を解析した。本ドメインの配列は、TFII-I-gammaのN末から5番目の配列と一致した。タンパク質TFII-Iの一部が欠損すると、そのドメインやモチーフをコードするパラログが近くに連結することやヘミ結合がなくなることにより、特異な神経認識や行動上の特徴などを与える優勢遺伝的変異を示すWilliams-Beuren症候群の原因となることが知られている。このドメインの構造、どのドメインと相互作用するのか、またその機能を明らかにすることにより、転写因子の欠損とハプロ不全状態での転写欠損による病気の原因について重要な情報が得られると考えられ、神経系医薬品開発に大きく貢献できると期待される。	
10	diacylglycerol kinase delta	C1 domain	1R79	released	2004.4.21	ジアシルグリセロールキナーゼは全長1195残基からなるタンパク質で、二つの脂質(diacylglycerol と phosphatidic acid)間のバランスを調節することで、シグナル伝達に関わっている。今回解析したドメインは、ジアシルグリセロールキナーゼのN末に存在しており、C1ドメインとも呼ばれている。他のタンパク質にあるC1ドメインがフォルボールエステルに結合するとの報告がある。今回の構造解析により、本タンパク質のC1ドメインもフォルボールエステルあるいはその誘導体と結合することが示唆された。	
11	RIKEN cDNA 1300006M19	SH3 domain	1SPK	released	2004.9.17	マウスcDNA由来タンパク質内のSH3ホモログである。良く似た配列(相同性:87%)に「insulin receptor tyrosine kinase substrate (human)」がある。塩基配列からのアノテーションによれば、チロシキナーゼにリン酸化される基質であると考えられる。解析ドメインはPxxPモチーフを持つプロリンリッチペプチドを認識するSH3ドメインのホモログであり、5本の $\beta$ シートがバレルを形成している。	
12	heme chaperone CCME of Escherichia coli		1SR3	released	2004.4.6	メタルシャペロンとは、金属コファクターを酵素まで運ぶ役割を担うタンパク質の事を言う。鉄(金属コファクター)をチトクロムc(酵素)まで運ぶ「CcmE」というタンパク質の可溶性部分(L30-S159)のNMR構造解析が行われた。CcmEは2つのサブドメインから成り、溶液中でそれぞれのサブドメインはある程度自由に配向できる事がわかった。N末端サブドメインは6本ストランドから成る $\beta$ バレルを構成し、それに1本の $\alpha$ ヘリックスがかぶさった形で配置されていた。一方、C末端サブドメインは1本のヘリックスと、それに続く二次構造を持たない16個のアミノ酸残基領域から成る。鉄含有のヘム結合に重要な役割の持つヒスチジン130が、他方のサブドメインの $\beta$ バレルの上部に来るような構造をとっている事が確認された。このメタルシャペロンCcmEの鉄運搬機能により、チトクロムcは体内の様々なところで十分な機能(細胞呼吸、ATP合成等)を果たす事が出来る。よって、この特定のシャペロンの研究は大きな意義がある。また、メタルシャペロンは反応性の強い有害金属コファクターから細胞組織を守る働きもある為、更なる研究が望まれる。	
13	F-spondin	TSR domain 1	1SZL	released	2005.4.19	F-spondinは神経系の発生に関わるタンパク質である。	
14	ephrin type-A receptor 8	SAM (Sterile alpha motif) domain	1UCV	released	2004.4.11	このドメインの立体構造は他のsterile alpha motif (SAM)のドメインに類似しており、これらのドメインの間では、関連した生物機能を保有していると考えられる。特に、様々なタンパク質間相互作用に関連しており、レセプターオリゴメライゼーションや発生調節に関与している。真核生物に多い。SAMドメインは上記に述べたように真核生物に多く、機能的に様々な応用への基礎知識をあたえてくれるものと思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
15	Intersectin 2 (KIAA1256)	fifth SH3 domain	IUDL	released	2003. 11. 5	真核生物の細胞膜で起こるclathrinによって仲介される細胞のエンドサイトーシスは、シナプス小胞の再利用に重要な役割をしている。Intersectin-2はそのエンドサイトーシスに関するダイナミン (dynamitin) に結合するタンパク質であり、clathrinによりコードされた細胞内小胞の形成およびcell antigen receptor (TCR)のエンドサイトーシスの誘導を制御しているものと考えられている。このタンパク質は足場タンパク質で、2つのEH domain、中央にcoil-coil領域、そして最後に5つの連なるSH3 domainというように異なる機能をもつ複数のドメインからなる。今回決定した構造は5つのSH3 domainの中の5番目に相当する。SH3 domainは非常によく研究が進んでいるdomainの一つで、プロリンリッチなアミノ酸配列と相互作用する事がよく知られている。また、最近の研究からIntersectinのSH3ドメイン群は、dynamitinやWASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) に結合することが判明している。5つのSH3 domainうちのdomainが上記のタンパク質に結合するかは不明であるが、結合実験等を進め個々のドメインの機能が判明することでWiskott-Aldrich 症候群に直接寄与する創薬へと結びつけられる可能性がある。その際には、解明された立体構造より結合可能なペプチド配列をin silicoスクリーニング法により予想することや、このドメインに対する標識試薬の設計や変異体の作製を立体構造をもとに行うことが可能となり、一連の構造決定は非常に有益な情報をもたらすと思われる。	
16	coactosin-like protein (cofilin family)		IUDM	released	2004. 4. 21	coactosin様のタンパク質で、cofilinファミリーに属する。他のcofilin_ADFタンパク質に共通した結合やその他の生物機能を持っていると考えられる。アクチン結合や、細胞の維持に必須な機能を保持しているため、基礎研究から産業応用までの様々な基礎知見を与えてくれる。	
17	intersectin 2 (Kiaa1256)	SH3 domain	IUE9	released	2003. 11. 9	真核生物の細胞膜で起こるclathrinによって仲介される細胞のエンドサイトーシスは、シナプス小胞の再利用に重要な役割をしている。Intersectin-2はそのエンドサイトーシスに関するダイナミン (dynamitin) に結合するタンパク質であり、clathrinによりコートされた細胞内小胞の形成およびcell antigen receptor (TCR)のエンドサイトーシスの誘導を制御しているものと考えられている。このタンパク質は足場タンパク質であり、2つのEH domain、中央にcoil-coil領域、そして最後に5つの連なるSH3 domain、というように異なる機能をもつ複数のドメインからなる。今回決定した構造は5つのSH3 domainの中の4番目に相当する。SH3 domainは非常によく研究が進んでいるドメインで、プロリンリッチなアミノ酸配列との相互作用が予想される。IntersectinのSH3ドメイン群は、dynamitin、WASP (Wiskott-Aldrich syndrome protein) に結合することが判明している。5つのSH3 domainうちのドメインが上記のタンパク質に結合するかは不明であるが、結合実験等をする事で個々のドメインの機能を解明し、また、Wiskott-Aldrich 症候群に直接寄与する創薬へと結びつけられる可能性がある。その際には解明された立体構造から、結合可能なペプチド配列をin silicoスクリーニング法により予想することや、このドメインに対する標識試薬の設計や変異体の作成を、立体構造をもとに行うことが可能となり、非常に有益な情報をもたらすと思われる。	
18	Hhr23B (complexed with ubiquitin-interacting motif of proteasome subunit S5A)	ubiquitin-like domain	IUEL	released	2004. 2. 10	ユビキチン相互作用モチーフUIMとUbLの最初の高分解能の複合体立体構造である。His58の側鎖プロトン化と結合解離定数の相関を発見し、pHに依存せずに常に強く結合するUb変異体を作製できた。UIMの立体構造は新規であり、構造を元に配列モチーフの再定義が可能となった。	
19	KIAA1568 protein	first fn3 (fibronectin type III ) domain	IUEM	released	2003. 11. 19	血球を除くほとんどの細胞は、コラーゲン、フィブロネクチン等の細胞外マトリックス分子によって形成される高次構造体に「接着」して存在している。フィブロネクチンは血漿を始めとする体液およびほとんど全ての組織の細胞外に広く見出される代表的な細胞外マトリックスタンパクの一つで、分子内の複数の接着部位の働きによって細胞の接着基質になると共に、細胞機能に様々な影響をおよぼす。KIAA1568タンパク質は、五つImmunoglobulinドメインと三つフィブロネクチンタイプIIIドメインからなり、fn_2はその一番目のフィブロネクチンタイプIIIドメインに相当する。細胞外マトリックスは単に細胞接着を支持する基質としてのみならず、細胞の増殖、分化、移動、死、更には特定遺伝子の発現等の細胞過程を調節する細胞機能制御分子としても作用している。そのため、フィブロネクチン立体構造の原子レベルでの解明は非常に重要だと思われる。	
20	KIAA0343 protein	third fn3 (fibronectin type III ) domain	IUEN	released	2003. 11. 19	フィブロネクチンは細胞の形質膜に存在し、遊離されたものが血液中に比較的高濃度に存在する糖タンパク質である。分子量22万のサブユニットからなり、血漿中のものは互いに数本のS-S結合により二量体として、また形質膜のものは二量体ないし多量体として存在している。ドメイン構造と呼ばれる独特な構造を持っており、フィブリン、コラーゲン、ヒアルロン酸、ヘパリンなどの生物学的高分子や、細胞表面のフィブロネクチン受容体 (インテグリン) と特異的に結合する。フィブロネクチンは、細胞の接着の促進に関与し、細胞の接着性が重要な役割を演じる発生、細胞の分化、器官形成、創傷治癒、免疫担当細胞の認識、止血血栓形成など極めて多彩で、生体の各器官の形成やその機能を維持するのに重要な生物現象のほとんどに関与している。ここでは、このフィブロネクチンタイプIIIドメインを繰り返し持つHuman KIAA0343 Proteinの中で3番目に位置するフィブロネクチンドメインの立体構造解析を行った。フィブロネクチンは細胞接着に関与する細胞表面蛋白質で、そのレセプターであるインテグリンと結合し、着床等の癌細胞の転移過程で重要な役割を果たすと考えられている。本研究で構造解析を行ったフィブロネクチンドメインの機能解析は、癌細胞の転移過程等の解明の一助となり得ることが期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
21	atrophin-1 interacting protein 1 (KIAA10705 Protein)	Third PDZ domain	1UEP	released	2003.11.20	PDZドメインはシナプスタンパク質 PSD—95、ショウジョウバエ癌抑制遺伝子D1g、タイトジャクシオン構成タンパク質ZO-1の間で保存された約100残基から成る繰り返し配列として見出された。PDZドメインを持つタンパク質はプロテインチロシンホスファターゼ、セリン/スレオニンキナーゼをはじめとし、Rho結合タンパク質Rhopilinなど非常に多岐に亘っている。このドメインは細菌から高等植物、哺乳類にまで保存されている。標的タンパク質のC末端のペプチド複合体の立体構造解析により、C末端ペプチドはPDZドメインのカルボン酸結合ループと呼ばれるHydrophobic coreに入り込み、βストランドと逆平行に位置して安定化されていることが報告されている。このβストランド-ペプチド相互作用が複合体形成に本質的に重要であると考えられる。このPDZドメインを繰り返して持つHuman Atrophen-1 Interacting Protein 1(KIAA0705)の中で3番目に位置するPDZドメインの立体構造解析を行った。PDZドメインは生体内においてシナプスやタイトジャンクションのような複雑な細胞膜構造の形成およびその維持、また、膜タンパク質の局在とその機能発現において重要な役割を担っていることが報告されている。本研究で構造解析を行ったPDZは、細胞膜構造の形成等に関与することが示唆されると共に、本研究はPDZドメインの新規の機能解明の一助となり得ることが期待される。	
22	Atrophen-1 interacting protein 1 (KIAA0705 protein)	first PDZ domain	1UEQ	released	2003.11.20	このタンパク質はPDZタンパク質中の一番目のサブドメインである。構造上は他のPDZドメインとよく似ている構造を取り、6本のシートと2本のヘリックスによって構成されている。PDZドメインは約80から90アミノ酸からなる繰り返し配列として見出されるペプチド結合ドメインとして知られ、細菌から高等植物や動物にまで広く見出される古い起源を持つドメインである。多様な機能を持つ可能性を示唆している。PDZドメインは標的タンパク質のC末端のペプチドモチーフを認識して結合するが特徴である。PDZドメイン-C末端ペプチド複合体の立体構造解析から、C末端ペプチドはPDZドメインのカルボン酸結合ループと呼ばれる疎水性の溝に入り込み、βストランドと逆平行に位置して安定化されていることが明らかになった。このβストランド-ペプチド相互作用が複合体形成に本質的に重要であると考えられる。細胞膜上にタンパク質を集積させるというPDZドメインの機能は細胞極性の確立なども含めたかなり広い範囲の生命現象において利用されていると予想される。PDZの特異性を満たすリガンドの候補が数多く見出され、予測できないほど多様な標的ペプチドが存在していると思われる。また、PDZドメインは蛋白質-蛋白質相互作用以外に予想外の型で複合体の足場として作用していると報告され、構造を明らかにすると共に新しい機能の発見が期待されている。	
23	Atrophen-1 interacting protein 1 (KIAA0705 protein)	fourth PDZ domain	1UEW	released	2003.11.22	このタンパク質は、神経萎縮症候群の患者からよく見られるポリグルタミン繰り返し配列をもつatrophen-1というタンパク質に結合する事で初めて単離されたものである。最近では、MAGUK (membrane-associated guanylate kinase homologue) という膜結合型シグナル伝達タンパク質ファミリーの一つに分類されMAGI-2と呼ばれると同時に、シナプスで重要なシグナル伝達に関わることからsynaptic scaffolding protein (S-SCAM) とも呼ばれる。このタンパク質はマルチモジュールタンパク質でN端から1つのPDZ domain (PDZ0)、guanylate kinase domain、2つのWW domainそして連続する5つのPDZ domain (PDZ1-5)で構成されている。今回構造決定を行ったものは、連続する5つPDZ domainの中の4番目のものである。最近の報告では、発ガン性ヒト乳頭腫ウイルス由来のE6 proteinがMAGI-2らと結合し、分解を引き起こす。この時PDZ domainが標的部位になっている可能性があり、そのメカニズムを明らかにすることで創薬へつながる可能性がある。その際、今回の一連のPDZ domainの構造決定により、結合部位と考えられている領域において、特徴的な残基が存在したり電荷分布等にそれぞれのPDZ domainの特異性がみられ、機能を考察する上で有益な情報が得られている。	
24	KIAA0343 protein	first fn3 (fibronectin type III) domain	1UEY	released	2003.11.22	本タンパク質はfinbronectin type III domain中の一番目のサブドメインである。構造上はfinbronectin type III domainの他のサブドメインとよく似ている構造を取り、全部で8本のシートによって構成されている。しかし、細胞接着性モチーフといわれるRGDの配列を持っていない。同じタンパク質からのほかのドメインと協同に細胞接着性などの機能を果たすのではないかと考えられる。フィブロネクチンは、動物の細胞表面、結合組織、血液中などに存在する分子量約46万の糖タンパク質である。フィブロネクチンは、細胞の接着の促進に関与し、細胞の接着性が重要な役割を演じる発生、細胞の分化、器官形成、創傷治癒、免疫担当細胞の認識、止血血栓形成など極めて多彩で、生体の各器官を形成する機能を維持するのに重要な生物現象のほとんどに関与していると研究で明らかになった。生理機能は多様で、細胞の接着・分化、癌の転移などに関与していると考えられている。たとえば、フィブロネクチンは細胞接着に関与する細胞表面蛋白質で、そのレセプターであるインテグリンと結合し、着床等の癌細胞の転移過程で重要な役割を果たすと言われている。また、フィブロネクチンは細胞接着を強く促進する作用があることが明らかになったので、細胞接着性の機能を果たし、修復医学とかで大きに役に立つと期待される。	
25	KIAA1526 protein	first PDZ domain	1UEZ	released	2003.11.22	PDZドメインはシナプスタンパク質PSD-95、ショウジョウバエ癌抑制遺伝子D1g、タイトジャクシオン構成タンパク質ZO-1の間で保存された、約80~90アミノ酸からなる繰り返し配列として見いだされた。その起源は古く、細菌から高等植物、哺乳類にまで保存されている。PDZドメインは標的タンパク質のC末端のペプチドモチーフを認識して結合するのが特徴である。PDZドメインは生体内において、複雑な細胞膜の形成と維持、またそこへの膜タンパク質の局在とその機能発現において重要な役割を担っている。KIAA1526タンパク質は三つPDZドメインを持つ機能未知のタンパク質であるが、今回解析したのはその一番目のPDZドメインに相当する。このドメインはPDZドメインの典型的なGLGFモチーフを持ち、六本反平行βシートと二本αヘリックスからなる。原子レベルで網羅的に数多くのPDZドメインにおける立体構造解明は、PDZドメインをもつタンパク質の機能多様性、PDZドメインの標的タンパク質の多様性、またPDZドメインと標的タンパク質との結合多様性を理解するのに大いに期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
26	doublecortin-like kinase	N-terminal DCX domain	1UF0	released	2003.11.22	DCAMKL1タンパク質は、そのN末端側にヒトX染色体にリンクした脳回欠損の原因遺伝子産物であるdoublecortinと非常に高いアミノ酸配列相同領域を持つ。今回、この領域に存在するDCXドメインの立体構造をNMRを用いて決定した。DCXドメインは微小管との相互作用ドメインであり、DCAMKL1およびdoublecortinタンパク質自体の機能は、微小管形成促進であると考えられている。DCAMKL1はdoublecortinと異なり、キナーゼドメインという興味深いドメインを有する。またRNAスプライシングパターンに多様性があることが報告されており、DCXドメインを失ったキナーゼドメインのみでも発現していることが知られている一方で、プロテアーゼ切断により全域からキナーゼドメイン部分の放出も示唆されている。しかしながら、それらの生化学的な意味、疾患との関連等はいまだに不明である。今回の構造決定は、このように未解明な部分の多いDCAMKL1の機能解析に向けて一つの試金石になるものと期待される。	
27	harmonin-like protein	second PDZ domain	1UF1	released	2003.11.22	KIAA1526タンパク質は、クローニングされたヒトcDNA配列から推測された963アミノ酸残基からなるタンパク質である。配列解析から3個のPDZドメインが予測されており、今回は2番目のドメインの立体構造をNMRを用いて決定した。ヒトKIAA1526タンパク質および他生物種におけるホモログについて、機能解析の報告はまだないが、タンパク質のアミノ酸配列やドメイン構造からharmoninというタンパク質との機能的な類似性が推定される。harmoninはCadherin23、myosinVIIaとともにアッシャー症候群に関わる遺伝子産物の一つであり、その変異により難聴という表現型を引き起こす。特にharmoninの2番目のPDZドメインはCadherin23との相互作用部位であり、これら3種の遺伝子産物をリンクさせる重要な部位である。一般的にPDZドメインは細胞膜の内側に局在し、膜タンパク質のC末端4-5アミノ酸残基を認識していると考えられている。今回の構造解析は、KIAA1526のような機能未知のタンパク質の機能予測を進める上で重要な知見を与えるのものである。と同時に、タンパク質間相互作用モチーフであるPDZドメインにおけるアミノ酸認識パターンを解明する上で、重要な情報を提供するものと期待される。	
28	Intersectin2 (Kiaa1256)	first SH3 domain	1UFF	released	2003.11.29	Intersectin-2はclathrinによって仲介される細胞のエンドサイトーシスに関与するタンパク質群に属する。Intersectin-2はクラスリンによりコートされた細胞内小胞の形成およびcell antigen receptor (TCR)のエンドサイトーシスの誘導を制御しているものと考えられている。またこのタンパク質はSH3と呼ばれる特徴的なドメインを複数含むことから他のSH3ドメインを含むタンパク質群と同様にプロリンリッチなアミノ酸配列との相互作用が予想される。プロリンリッチな配列との相互作用は多くのタンパク質で機能発現に重要であり、現在までにSH3ファミリーに属するいくつかの蛋白質に関して立体構造と相互作用様式が明らかにされている。SH3ドメインはその機能発現にプロリンリッチなアミノ酸配列との相互作用が重要であることが示されている。本件におけるSH3ドメインも同様にプロリンリッチな配列との相互作用が予想される。したがって解明された立体構造より結合可能なペプチド配列をin silicoスクリーニング法により効率良く予想することが可能である。また、このドメインに対する標識試薬の設計や変異体の作成を立体構造をもとに行うことが可能であり、Intersectin-2の細胞における機能の解明に応用できることが期待できる。	
29	nuclear Lamin	immunoglobulin like domain	1UFG	released	2004.6.22	Intermediate filaments (IF)は核膜の基本的なコンポーネントであり、核膜において8-14nmの幅を持つフィラメント構造を形成することが知られている。IFタンパク質は大きなマルチジーンファミリーのメンバーの一つであり、その下層には次のような5つのサブファミリーが存在する。type I: acidic cytokeratins, type II: basic cytokeratins, type III: vimentin, desmin, glial fibrillary acidic protein (GFAP), peripherin, plasticin, type IV: neurofilaments L, H, M, alpha-internexin, nestin, type V: nuclear lamins A, B1, B2, C。これらの内nuclear Lamin Aが本件に該当するタンパク質である。Laminはnuclear laminaの構成成分であり、核膜内部の核質側にあるfibrous layerにおいて、おそらく核膜に対する骨格として機能し、おそらくはクロマチンとの相互作用に関わっている。IF-tailの細胞における機能はその大部分が未だ不明であるが、多くの生物種で見出され、核膜に対する骨格としての機能、クロマチンとの相互作用との関連が示唆されていることから、細胞内における重要な機能を有していることが予想されている。本件により明らかにされた構造を元に標識化合物の開発、あるいは培養細胞での発現実験などに用いる変異体のデザイン等への応用が期待できる。また筋ジストロフィー患者の遺伝子中でこのタンパク質に関わる変異が見出されており、それらの変異がこのタンパク質の機能上どのように影響を与えているかを知る上で本件により明らかにされた立体構造が新しい治療法、治療薬等の開発に関わる多くの示唆を与えることが期待できる。	
30	COP9 subunit 4	PCI domain	1UFM	released	2004.6.29	シグナル伝達に関わる複合体COP9のサブユニット4のPCIドメインである。PCIドメインはproteasome、COP9、eIF3の複数のサブユニットで見つかるドメインであるが、機能はまだ解っておらず、ここで解明された立体構造が機能研究に新たな知見を与えられるかもしれない。	
31	putative nuclear protein homolog (5830484A20Rik)	SAND domain	1UFN	released	2004.6.22	SANDドメインは、Sp100ファミリーおよびNUDRを含む、多くの核タンパク質で見つかった配列モチーフである。これらは染色体依存の転写機構で重要な役割をになっていると考えられ、また多くの疾病に関与している。5830484A20Rikタンパク質の機能はまだ不明ではあるが、ゲノム・プロジェクトにおける塩基配列決定の段階を終了した後注目される点としては、あらたな遺伝子によってコードされたすべての蛋白質の構造および機能を決定するというものになってきている。構造プロテオミクス・プロジェクトがあるタンパク質において利用される空間についての基礎的な疑問に答えてくれたり、創薬への応用に關する情報を明らかにすると期待される。創薬のターゲット分子の数がポストゲノム時代には劇的に増加すると予想され、また蛋白質の構造に関する詳細な情報はターゲット分子に対する薬の開発を促進するであろう。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
32	Synaptojanin 2	RNA-binding domain	1UFW	released	2003.12.10	Synaptojanin 2の中に含まれるドメインとして同定されたRNA 結合ドメイン(rrm)と相同性を持つドメインである。本来この蛋白質はSynaptojanin 1とともにinositol 5'-phosphataseとして知られており、神経細胞の末端に多量に発現し、シナプスでの小胞再利用に関わっていると考えられている。構造解析の結果、このrrmモチーフはRNA結合に関与している一般的なrrmと異なり、構造上核酸とのスタッキングに必要なアミノ酸が変異しているうえ、静電的にRNA結合に適していない状態にあることがわかった。近年rrmモチーフは、RNA結合のみならず蛋白質間相互作用にも働いていることが示唆される例があげられており、今回解析を行ったrrmモチーフも蛋白質相互作用に関わっている可能性が示唆される。また、構造的に興味深い点として、一次配列上相同性があると考えられているSynaptojanin 1はすでにX線結晶構造解析がなされているが、この中でSynaptojanin 2で見られたrrmの部分と相同性をもつ部分の構造は、rrmとは異なったフォールディングをもっている。このことは、蛋白質のフォールディングを考える上で興味深い。この構造解析の結果から、このrrmモチーフの本来のターゲットの検索につながるものとして期待できる。さらに、一次配列で相同性を持つ二つの蛋白質が異なった構造を持つ可能性があり、蛋白質のfoldingや進化を考える上でも興味深い。	
33	human KIAA1526 protein	third PDZ domain	1UFX	released	2003.12.10	現在、数十のシグナル伝達に関与するタンパク質がPDZ (あるいはDHRまたはGLGF) ドメインと呼ばれる80-100残基の繰り返し領域を含むことが知られている。それらのうちいくつかのものはイオンチャネル/受容体のC末端テトラペプチドモチーフX-Ser/Thr-X-Val-COO-相互作用する。KIAA1526タンパク質の機能はまだ不明ではあるが、ゲノム・プロジェクトにおける塩基配列決定の段階を終了した後注目される点としては、あらたな遺伝子によってコードされたすべての蛋白質の構造および機能を決定するというものになってきている。構造プロテオミクス・プロジェクトがあるタンパク質において利用される空間についての基礎的な疑問に答えてくれたり、創薬への応用に関する情報を明らかにすると期待される。創薬のターゲット分子の数がポストゲノム時代には劇的に増加すると予想され、また蛋白質の構造に関する詳細な情報はターゲット分子に対する薬の開発を促進するであろう。	
34	hypothetical protein BAB28515	HBS1-like domain	1UFZ	released	2004.8.3	HBS1は、Hsp70ファミリーの分子シャペロンであり、また、リボソームにおいてポリペプチド鎖のフォールディングに必要なSsb1、ssb2に対して抑制的に働くものとして酵母から拾われてきた。今回解析された蛋白質は、このマウスにおけるホモログである。現在の時点では、機能未知の蛋白質であるが、Hbs1との相同性から蛋白質の翻訳制御を行っていると考えられている。構造解析の結果、 $\alpha$ ヘリックスに富んだ構造をしていることが明らかとなった。また、この蛋白質は新規フォールドであると考えられる。現在機能解析を進めているが、この蛋白質は、真核生物に広く分布しているものであり、この構造解析によって共通の翻訳制御のメカニズムの解明が行われることが期待される。	
35	BAB30904	SURP domain	1UG0	released	2004.8.3	SurpドメインはいくつかのRNA結合蛋白質で見出される新規のドメイン構造であり、RNA分子の認識を担っていると考えられている。今回解析を行ったSurpドメインは、スプライシング関連因子であるSF4蛋白質中に見出されるものであり、スプライシング反応の制御に関わっていると考えられる。構造としては、 $\alpha$ ヘリックスによって構成されたドメインであり、新規フォールドである。スプライシング因子の中では今まで、構造のわからなかったドメインであり、スプライシング機構の解明に重要な情報を与えると考えられる。	
36	hypothetical protein BAA76854.1	SH3 domain	1UG1	released	2003.12.11	機能未知蛋白質であるが、ドメイン構成から細胞内の情報伝達にならうグアニンスクレオチド交換因子に含まれるSH3ドメインであると考えられる。このドメインは、従来Pro-rich peptideに結合することが知られているが、今回の構造解析の結果SH3-Iは、従来SH3ドメインで知られているPro-rich peptideを結合する部位の高次構造がかわり、Pro-rich peptide以外のアミノ酸配列を結合する可能性が示唆された。近年、SH3 蛋白質がPro-rich peptide部分以外を認識する例が数多く示唆されているが、いずれもPro-rich peptideとともに特異的な結合配列をもつものである。今回扱ったSH3モチーフは、Pro-rich peptideとの結合ができないようにみえるので、Pro-rich peptide以外の特異的な結合配列のみを結合する可能性がある。従来知られている結合様式とは異なる様式でのターゲットとの結合が示唆されるので、SH3ドメインの認識様式を理解する上で重要になると考えられる。	
37	hypothetical gene (2610100B20Rik) product	SANT domain	1UG2	released	2004.6.22	本タンパク質はSANTドメインに属し、マウスから発現された。しかし、今までにその分子構造及び機能については全く報告されていない。分子構造上は3本のヘリックスから構成され、構造及びアミノ酸配列はMyb DNA binding domainと非常に相似性が高く、しかしMybのDNAとの結合サイトと言われる部分の表面電荷は大きな相違点を持っていることがわかった。DNA と結合する可能性が非常に低いと考えられるが、別の大きな役割を果たしているかを調べる必要があると言える。結合サイトを決め、機能を解明する次第に明らかになるだろう。	
38	hypothetical protein 2610208M17Rik	four helical up-and-down bundle domain	1UG7	released	2004.8.17	本解析タンパク質は機能未知なhypotheticalタンパク質であり、またアミノ酸配列上のホモログも見つかっていない。four-helix bundleフォールドを取っており、catenin/vinculinファミリーや、histidine phosphotransfer domainや、cytochromeファミリーに高い構造類似性を示している。Four-helix bundleフォールドは、構造的に安定なモジュールで、タンパク質間相互作用に適した伸びた表面を持っており、シングルドメイン、あるいはドメイン間相互作用を通じて様々な機能を発揮することが知られている。アミノ酸配列情報と合わせ、hypotheticalタンパク質のモデルの1つでもある本解析タンパク質の構造情報から機能への推測とその検証が期待される。	
39	poly(A)-specific ribonuclease	R3H domain	1UG8	released	2004.8.17	本タンパク質は、真核生物の細胞において、mRNAの3'-poly(A)をプロセッシングに切断するRNaseである。また、5'末端のcap構造と直接結合し、それがpoly(A)の切断効率をあげ、これが引き金となり、mRNAの分解が誘発される。一次配列上、RNaseとしては、DEDHhファミリーに属する。R3Hドメインは、上記のRNase領域を中央で分断するように挿入されている。本ドメインは、 $\alpha$ $\beta$ $\beta$ トロポロジーを有する。この構造は、translation-initiation factor IF3、ribosomal protein S8のN末端ドメイン、DnaseIなどと似ている。R3Hの機能は、poly(A)結合または、キャップ結合と推測される。mRNAの寿命を制御しているタンパク質の中のひとつであるが、最近nonsense-mediated decay (NMD)に関わるタンパク質群と共に存在することが報告された。NMDについては、その欠損がサラセミア (遺伝性の溶血性貧血) やT細胞レセプター遺伝子の発現異常の原因であることが知られている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
40	hypothetical protein from RIKEN cDNA 2310057J16		1UGJ	released	2004.8.3	マウスだけではなく人にも共通し、多種の生命に存在すると予測されているこのタンパク質は機能が全くわかっていない。また、NMRにより原子レベルの高分解能でタンパク質のほぼ全体の立体構造を明らかにした結果、これまでに全く報告されていない新規の立体構造であることがわかった。このタンパク質に似たアミノ酸シーケンスが原始的な多細胞生物の <i>C. elegans</i> にも見つけられ、また他の生物に見つかっているため、生物の進化上で極めて重要なタンパク質であるということが推察される。他の生物のこれと同じ構造を持つタンパク質の立体構造を網羅的に高分解能で明らかにすることで、進化メカニズムを明らかに出来るとともに、このタンパク質の機能も明らかに出来ることが期待される。さらに、機能が解明されることで医薬品開発のターゲットになることも可能になる。	
41	synaptotagmin IV (KIAA1342)	first C2 domain	1UGK	released	2003.12.16	シナプトタグミン・ファミリーは末端に膜貫通領域を一箇所、細胞質領域にはPKCのC2とホモロジーを有する配列が2箇所持つタンパク質の総称である。シナプトタグミンは、神経細胞のシナプス小胞などに局在する膜タンパク質でCa <sup>2+</sup> の結合により小胞内の神経伝達物質を細胞外へ開口放出するが、特にシナプトタグミンIVはCa <sup>2+</sup> 非依存的に振舞う。今回、NMRにより原子レベルの高分解能で立体構造を解明したC2ドメインは、このCa <sup>2+</sup> に依存しない最も重要な部分である。立体構造解析の結果、シナプトタグミンIVの原子レベルでの機能解明につながった。シナプトタグミンIVは別の膜タンパク質であるシタキシンに結合して開口放出が起こると報告されているが、今回の詳細な立体構造解析の結果により、原子レベルでのシナプトタグミンIVによる神経伝達物質の移動のメカニズムが明らかになると期待される。さらに、他のシナプトタグミンの機能と詳細に比較することで、神経伝達を促進させるシナプトタグミンIVの生体内での相補的な役割の解明につながる。また、神経伝達に関与するタンパク質の高分解能の立体構造は、脳に関連する医薬への応用に大きく貢献できるものと考えられる。	
42	S8-Sp11		1UGL	released	2003.9.30	アブラナ属植物の自家受粉阻害機構に関する最初の立体構造の知見である。アブラナにおける自己・非自己認識に関わる遺伝的に多様性を持っている領域が立体構造上の運動性の高いループに相当することが判明したため、工学的に興味深い。構造がヒトなどの生体防御蛋白質defensinと同一のフォールドであり、自己認識と生体防御の間の機能的な近い類縁関係を示唆する。植物の育種・交雑への応用や、遺伝子組換え作物の花粉の飛散防止などへの利用が考えられる。	
43	Bcl2-associated athanogene 5	first BAG domain	1UGO	released	2004.8.3	分子シャペロンHsp70のATPase domainに結合能があると考えられるBAG domainを4個持つBAG5 familyの第一ドメインの立体構造を解析した。BAG5 familyのBAG domainとしては初めての立体構造である。全体としてはBAG domain特有の $\alpha$ -helixを3本反平行に束ねた構造を持っていた。すでに構造解析されているBAG1、BAG4との比較では、第三ヘリックスが真つすぐではなく、Proのところでは折れ曲がった構造を持っていた。また、第一ヘリックスのN端ではHis側鎖のイミダゾール環の窒素原子とヘリックス主鎖のアミドプロトンによる新しいタイプのキャップ構造が見出された。現在のところBAG5 familyの分子機能は明らかにされていない。	
44	olygophrein-1 like protein (KIAA0621)	SH3 domain	1UGV	released	2003.12.20	このタンパク質は、GRAF proteinとして知られるシグナル伝達系タンパク質に含まれるドメインの一つである。良く知られているフォールドを有し、プロリンに富む配列のペプチドに結合するが、多様な生理機能を担っていることが知られている。今回、立体構造の解析ができたため、このタンパク質がどのような生理機能を担っているか、他の既知のSH3と比較でき、また、ドメインの機能性アミノ酸残基と構造性アミノ酸残基をアミノ酸配列上マップすることが可能となった。GRAF proteinは白血病関連因子(MLL遺伝子)と融合し、若年型骨髄性白血病を引き起こすことで知られている。今回human GRAF proteinの構成ドメインの一つの立体構造を解き、機能性アミノ酸残基特定の基盤を固めたことから、将来的に抗癌剤として働くような医薬品の開発に役立つと期待される。	
45	KIAA1010 protein	SH3 domain	1UHC	released	2003.12.28	SH3 (src Homology-3) ドメインは約50残基からなるタンパク質モジュールであり、それらは多くのガン遺伝子産物やシグナル伝達に関与するタンパク質に見出されている。SH3ドメインの知られている機能は、プロリンリッチペプチドとの結合を介した特異的なタンパク質複合体の会合を触媒することであり、チロシンキナーゼによって細胞表面から下流のエフェクタータンパク質へシグナルを伝達する経路で働くことが報告されている。本SH3ドメインは、これらの一般的なSH3ドメインの構造と同様なフォールドを持ち、プロリンリッチペプチド結合部位に保存されているアミノ酸配列を有している。本SH3ドメインが認識するアミノ酸配列をフェージディスプレイ法などにより探索し、認識配列に特異性を持たせるアミノ酸を同定する。また、当研究所で構造決定された他のSH3ドメインも合わせて、種々のアミノ酸配列を認識する結合部位アミノ酸のパターン解析を行う。これは、種々の遺伝子疾患に関与するシグナル伝達の調節を可能にし、薬剤開発の一助となるものと期待される。	
46	intersectin 2(KIAA1256)	third SH3 domain	1UHF	released	2004.8.10	真核生物の細胞膜で起こるclathrinによって仲介される細胞のエンドサイトーシスは、シナプス小胞の再利用に重要な役割をしている。Intersectin-2はそのエンドサイトーシスに関与するダイナミン(dynamin)に結合するタンパク質であり、clathrinによりコートされた細胞内小胞の形成およびcell antigen receptor (TCR)のエンドサイトーシスの誘導を制御しているものと考えられている。このタンパク質は足場タンパク質で、2つのEH domain、中央にcoil-coil領域、そして最後に5つの連なるSH3 domainというように異なる機能をもつ複数のドメインからなる。今回決定した構造は5つのSH3 domainの中の3番目に相当する。SH3 domainは非常によく研究が進んでいるドメインの一つで、プロリンリッチなアミノ酸配列と相互作用する事がよく知られている。また、最近の研究からIntersectinのSH3ドメイン群は、dynaminやWASP(Wiskott-Aldrich syndrome protein)に結合することが判明している。5つのSH3 domainうちのドメインが上記のタンパク質に結合するかは不明であるが、結合実験等を進め個々のドメインの機能が判明することでWiskott-Aldrich症候群に直接寄与する創薬へと結びつけられる可能性がある。その際には、解明された立体構造より結合可能なペプチド配列をin silicoスクリーニング法により予想することや、このドメインに対する標識試薬の設計や変異体の作製を立体構造をもとに行うことが可能となり、一連の構造決定は非常に有益な情報をもたらすと思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
47	linker histone homolog Hho1p	globular domain, HD1	1UHM	released	2003.12.16	出芽酵母由来リンカーヒストン様タンパク質Hho1pは相溶性の高い2つの球状ドメイン(HD1とHD2)をもつ。これらのドメインの構造を調べたところ、HD1はwinged-helix-trun-helix motifの構造をとっていたが、HD2は高次構造のないランダムな構造であった。Gel mobility assayで、本タンパク質はスーパーコイル型のDNAに優先的に結合した。また、変異体-DNA複合体のNMR構造解析より、HD1ドメインに含まれる4領域がDNA結合に関わっていることが明らかとなった。これらの結果から、本タンパク質がより高度な真核生物のリンカーヒストンと類似の特性を持つことが示唆される。	
48	RSGI RUH-005 (KIAA1095)	PDZ domain	1UHP	released	2004.1.9	PDZ domainは、神経系に発現するタンパク質に多く含まれるドメインで、他のタンパク質のC末端の細胞内部位の特異的アミノ酸配列を認識して結合する。このドメインはヒトゲノム中に数百個と、他に類を見ないほど多量に存在しているものの、そのほとんどの実態や機能の解明は進んでいない。本PDZ domainの構造は、一般的なPDZ domainの基本構造と類似しているが、その配列上に大きなループ構造(構造をとっていない領域)を持つ。本PDZ domainは、その配列情報より、semaphorin cytoplasmic domain associated protein 3 (SEMCAP-3)と高い類似性が確認された。Semaphorins (Semas)は、主に神経に発達しているglycoproteinであり、血管新生、癌化、神経軸索の化学忌避などに関与していると考えられている。このSEMCAP-3は、酵母のtwo-ハイブリッド法を用いて、膜貫通型のSemasの細胞内ドメインに結合するタンパク質として同定されているが、その機能については報告されていない。hage displayなどを用いた本PDZ domainの結合因子探索を行い、同時にSEMCAP-3との関連性も追求する。また、当研究所で構造決定された他の数十種類のPDZ domainと合わせて、網羅的に機能解析を進め、PDZ domainの構造活性相関を明らかにすることで、神経系に作用する医薬品の開発が期待される。	
49	BRG1-associated factor 60A	SWIB domain	1UHR	released	2004.8.24	SWI/SNFタンパク質複合体はクロマチンリモデリングに関する重要な因子である。SWI/SNF-related, matrix-associated, actin-dependent regulator of chromatin (SMARC)は、SWI/SNFタンパク質複合体のコンポーネントとして知られている。SWIBは、SMARCD1のドメインであり、この構造や機能の解明がクロマチンリモデリング全体の研究に大いに役に立つと期待されている。しかしながら、SWIBドメインについての構造や生化学的情報等の詳細は未だに報告されていない。そこで本研究では、NMR法を駆使してこの新規タンパク質の立体構造を初めて明らかにした。今回報告したSWIBドメインはマウス由来であるが、ヒト由来のホモログと一次構造上完全に一致している。ヒトSMARCD1遺伝子の染色体上の位置はAllgrove syndromeに起因する重要な領域と合致する。本研究で発表した構造を起点に、今後これらの研究、つまり、メカニズムの解明や新薬創造に弾みがつくことが予想される。	
50	HOP (homeobox only protein)		1UHS	released	2004.7.10	HOPは1個のホモオボックスのみからなるタンパク質で、アミノ酸配列解析から一般的なホモオボックスとは異なりDNA結合能を有さないことが示唆されていた。今回、立体構造を決定した結果、このDNA結合能を有さない理由が原子レベルで明らかになった。遺伝子欠損マウス解析の結果から、HOPは初期発生段階における心臓の発育を促進することが知られている。またDNAマイクロアレイの結果から、数多くのSerum response factor (SRF)に依存した細胞増殖関連遺伝子の発現量を変化させることが示されている。そのメカニズムとして、HOPがSRFに直接相互作用することで、SRFによる種々の遺伝子のプロモーター領域への結合を阻害すると考えられている。そこでHOPとSRFの相互作用を阻害するリガンドを創造することは、SRF依存の遺伝子の発現を上昇させると期待される。今回の構造決定により、ヒトにおけるこれらの系の異常に起因する疾患に対する創薬にも大きく貢献できるものと期待される。	
51	hypothetical protein	FHA (forkhead associated) domain	1UHT	released	2004.1.10	機能未知蛋白質のforkhead-associated (FHA) domainの立体構造を核磁気共鳴法(NMR)により原子レベルで決定した。本研究において決定したFHA domainは、これまでよく研究されているFHA domainと比較して基質結合部位に関して構造的類似性および配列的類似性を持つことが明らかになった。FHA domainは、リン酸化されたペプチドおよび蛋白質と相互作用して結合することが知られている。したがって今回解析したドメインは、リン酸化したペプチドまたは、蛋白質と相互作用する可能性が非常に高い。本研究で明らかになった構造から全長蛋白質の機能に関して、重要な知見が得られた。FHA domainを持つ蛋白質の多くは、細胞周期や蛋白質分解に携わっていることが多い。したがって、この機能未知の蛋白質もそのような機能を担っていると推測される。	
52	RIKEN cDNA 3110009E22	retroviral Gag MA-like domain	1UHU	released	2004.7.27	レトロウイルス粒子を形成するGag蛋白質の一部に類似した遺伝子の、MAドメインに相当する部分の解析を行った。MAドメインには複数の機能があるが、主にはGagと脂質二重膜との結合を制御するドメインで、レトロウイルス成熟化の際にプロテアーゼで切り離される。	
53	Staufen homolog 2	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1UHZ	released	2004.8.3	二重鎖特異的RNA分解酵素の中にあられる二重差RNA結合ドメインで、構造上では、現在知られている蛋白質の中で、ショウジョウバエでのRNA極在化に関与するstaufen蛋白質と相同性を持つ。dsrmlとともに、よく知られているドメインにもかかわらずその構造解析例は少なく、この構造の共通の構築原理を導き出せると考えている。	
54	LXRalpha-RXRbeta LBD heterodimer	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1UIL	released	2004.11.16	drosophila maleless (MLE)のヒトホモログ、DEAD/H(Asp-Glu-Ala-Asp/His)ファミリーに属するATPase/helicaseでRNAとDNAを3'から5'の方向にほどこく。RNA:DNAハイブリッドもほどこく可能性がある。核内に多いが、核・細胞間を行き来する。Type D retrovirusのconstitutive transport element (CTE) RNAと結合する。CTE RNAは、哺乳類宿主においてviral genomic RNAの核から細胞質への輸送に働いている。CTEはloopAとloopBから構成されており、いずれも対称性の高いインターナルループとA-richバルジを有する。TARを介したHIV-1遺伝子発現に重要である。Coactivator CREB-binding protein(CBP)とRNA polymerase IIの結合を仲介している。また、Breast cancer-specific tumor suppressor protein (BRCA1)と結合する。最近の報告で、RHAはprespliceosomeの構成分子であることが示唆された。解析ドメインであるdsrm 1およびdsrm 6はどちらも、二重鎖のRNAとDNAのいずれか、もしくは両方と結合する。二つのDSRMを含むN末端領域で以下のタンパク質および核酸と結合しているらしい。dsrm 1およびdsrm 6は同じフォールドを有する。αββαトポロジーを持つ。異なるタンパク質の同ファミリーに属するドメインについては立体構造がいくつか報告されている。その中には、二重鎖RNAとの複合体の立体構造も含まれる。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
55	hDLG5 (human homolog of the Drosophila gene <i>dlg</i> [lethal discs-large]) protein	PDZ domain	1UIT	released	2004.1.22	PDZドメインを有するタンパク質の多くは細胞膜や細胞間接着部位に局在するが、細胞の増殖・分化の段階依存的に核移行するものも多々ある。PDZドメインと結合しうるC末端細胞内領域を有するレセプターやイオンチャンネルなどの膜タンパク質のアンカーや、種々のシグナルタンパク質の足場として機能しているとの報告がある。本PDZドメインは種々のPDZドメインと同様のフォールドを持つことが明らかとなったが、細胞内領域を認識に関与するとされているアミノ酸の配列はやや異なっている。本PDZドメインはhDLG5 (human homolog of the Drosophila gene <i>dlg</i> [lethal discs-large])タンパク質に含まれているが、このhDLG5はMAGUK (Membrane associated glyanlate kinase) familyに帰属する。このMAGUKは家族性心房細動(主症は不整脈)の、病変遺伝領域にコードされていることが報告されている。本PDZドメインの詳細な立体構造を利用した結合因子探索を行い、相互作用ターゲット分子を同定することでhDLG5タンパク質の機能を解明すると同時に、先の疾病に対する薬剤開発にも応用されるものと期待できる。	
56	hypothetical KIAA0559 protein	PDZ domain	1UJD	released	2004.1.31	ヒトKIAA0559類似たんぱく質は、C末端にprotein kinase C 保存領域を持つ機能未知たんぱく質である。このヒトKIAA0559類似たんぱく質には、一つのPDZドメインが存在することが明らかとなっている。しかしながら、このPDZドメインの構造はまだ報告されておらず、本タンパク質の機能、および、本タンパク質機能発現におけるPDZドメインの役割については、未だ解明されていない。そこで、本実験では、相互作用ペプチド、タンパク質の探索、および、機能解析への発展を視野に入れ、このPDZドメインの立体構造を明らかにした。分子原子レベルでのPDZドメインの構造解析を試みたことで、本タンパク質の相互作用ペプチド、タンパク質の結合部位、および結合分子の予測が可能となった。今後は、コンピューターを用いた結合モデルのシミュレーションや種々の実験によって、本タンパク質のPDZドメインの機能が明らかになることが予想される。これはヒトの種々の生理現象の解明に向けた重要な一歩である。	
57	Transgelin	CH(calponin homology) domain	1UJO	released	2004.9.14	アクチン結合蛋白質であるtransgelinのCalponin Homology ( CH ) domain の立体構造を核磁気共鳴法 ( NMR ) により原子レベルの解像度で決定した。アクチンは、細胞内骨格など構成し生体内に幅広く存在しており、さまざまな生物種で高いアミノ酸配列保存性を有している重要な蛋白質である。その機能も多岐に渡っており、いまだ解明されていない機能も多い。本蛋白質は、このアクチンと1:6の割合で結合し、アクチンの解離会合制御をしていることが知られている。本研究によって明らかになった立体構造から、アクチンとの相互作用を立体構造に基づいた重要な知見を提供することができた。近年、神経細胞成長にアクチンがかかわっていることが報告されている。したがって、transgelinも細胞成長の制御に携わっている可能性が非常に高い。このことから、細胞成長および抑制に関する創薬の重要な指標になると考えられる。	
58	BAB28015	WWE domain	1UJR	released	2004.10.5	新規フォールドのドメインであり、蛋白質のエピキチン化および、ADPリボシル化の過程であられる蛋白質で見つけられる蛋白質である。我々が今回構造解析に成功したWWEドメインは、一次配列上の相同性からユビキチン化に関わっている蛋白質であると考えられる。構造解析の結果から、βシートをより集めて筒状の形状をもった構造をとっていることが明らかになった。さらにATPを加え、スペクトル上でのシグナルの変化を追跡することにより、分子上の特定の部分に基質を結合すべき部位を推定することができた。現在、その情報をもとにin silico スクリーニングを行い本来のターゲットの検索を進めている。本蛋白質は、アルツハイマー病の患者で発現の増加が見られている。近年、ユビキチン化と様々な病体との関連が指摘されている例が多く指摘されており、今回得られた構造をもとにWWEドメインによる基質認識および役割についての情報が得られるものと期待している。	
59	actin-binding LIM protein homologue (KIAA0843 protein)	Villin headpiece domain	1UJS	released	2004.2.11	Villin headpieceドメインはコンパクトであるが(〜76アミノ酸残基からしかなくない)、分離された状態でも十分なF-アクチンへの結合力を持っている。すべての識別されたheadpieceドメインは高い配列類似性(35-40%)を示し、F-アクチンとの結合に必要な2つの重要なF-アクチン結合領域のうちの1つを含んでいる。また、それらはさらなるアクチン結合部位を持っているような、より大きなアクチン結合のコアドメインのC末端で見つかっている。actin-binding LIM protein homologue (KIAA0843 protein) の機能はまだ不明ではあるが、ゲノム・プロジェクトにおける塩基配列決定の段階を終了した後注目される点としては、あらたな遺伝子によってコードされたすべての蛋白質の構造および機能を決定するというものになってきている。構造プロテオミクス・プロジェクトがあるタンパク質において利用される空間についての基礎的な疑問に答えてくれたり、創薬への応用に関する情報を明らかにすると期待される。創薬のターゲット分子の数がポストゲノム時代には劇的に増加すると予想され、また蛋白質の構造に関する詳細な情報はターゲット分子に対する薬の開発を促進するであろう。	
60	KIAA1568 protein	fn3 (fibronectin type III ) domain	1UJT	released	2004.2.11	fibronectinタイプIIIドメイン(FnIIID)は、基本的なタンパク質で最も一般的なフォールドのうちの1つである。fibronectinの中で最初に見出され、その後すべての動物性タンパク質の〜2%で見つかっている。これらのうちのほとんどは細胞外のタンパク質であるが、細胞内タンパク質である膜受容タンパク質でも見つかっている。X線結晶学およびNMR分光学は、いくつかの動物のFnIIIDの構造を解明するために使用され、すべてのFnIIIDにおいて、80-100アミノ酸残基からなる3つのストランドと4つのストランドのβサンディッチ構造をもっている。しかしながら、多くのFnIIIDsの機能はまだ明らかではないが、各FnIIIDはドメイン固有な領域とドメイン特異な領域を持っている。比較的保存された残基からなるドメイン固有な領域は、FnIIIDの構造の基盤となっており、その領域は水素結合ネットワークおよび疎水コアを含んでいる。その基盤となる部分はすべてのFnIIID構造に共通であり、応力にたいするメカニカルな伸張性や高い再折りたたみ速度をもったドメイン構造を与えている。対して、ドメイン特異な領域は、FnIIIDファミリーにおいてあまり保存されていない露出した残基によって形成されている。これらの残基は、しばしば相互作用するパートナー蛋白質の認識領域を形成している。KIAA1568タンパク質の機能はまだ不明ではあるが、ゲノム・プロジェクトにおける塩基配列決定の段階を終了した後注目される点としては、あらたな遺伝子によってコードされたすべての蛋白質の構造および機能を決定するというものになってきている。構造プロテオミクス・プロジェクトがあるタンパク質において利用される空間についての基礎的な疑問に答えてくれたり、創薬への応用に関する情報を明らかにすると期待される。創薬のターゲット分子の数がポストゲノム時代には劇的に増加すると予想され、また蛋白質の構造に関する詳細な情報はターゲット分子に対する薬の開発を促進するであろう。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
61	Scribble (KIAA0147 Protein)	PDZ domain	1UJU	released	2004.2.11	現在、数十のシグナル伝達に關するタンパク質がPDZ(あるいはDHRまたはGLGF)ドメインと呼ばれる80-100残基の繰り返し領域を含むことが知られている。それらのうちいくつかのものはイオンチャネル/受容体のC末端テトラペプチドモチーフ-Phe-Ser/Thr-X-Val-COO-相互作用する。KIAA0147タンパク質の機能はまだ不明ではあるが、ゲノム・プロジェクトにおける塩基配列決定の段階を終了した後、注目される点としては、あらたな遺伝子によってコードされたすべての蛋白質の構造および機能を決定するというものになってきている。構造プロテオミクス・プロジェクトがあるタンパク質において利用される空間についての基礎的な疑問に答えてくれたり、創薬への応用に関する情報を明らかにすると期待される。創薬のターゲット分子の数がポストゲノム時代には劇的に増加すると予想され、また蛋白質の構造に関する詳細な情報はターゲット分子に対する薬の開発を促進するであろう。	
62	membrane associated guanylate kinase inverted-2 (MAGI-2)	second PDZ domain	1UJV	released	2004.2.11	このタンパク質は、神経萎縮症候群の患者からよく見られるポリグルタミン繰り返し配列をもつatrophin-1というタンパク質に結合する事で、初めて単離されたものである。最近では、MAGUK(membrane-associated guanylate kinase homologue)という膜結合型シグナル伝達タンパク質ファミリーの一つに分類されMAGI-2と呼ばれると同時に、シナプスで重要なシグナル伝達に關することからsynaptic scaffolding protein(S-SCAM)とも呼ばれる。このタンパク質はマルチモジュールタンパク質で、N端から1つのPDZ domain(PDZ0)、guanylate kinase domain、2つのWW domainそして連続する5つのPDZ domain(PDZ1-5)で構成されている。今回構造決定を行ったものは、連続する5つPDZ domainの中の2番目のものである。最近の報告では、発ガン性ヒト乳頭腫ウイルス由来のE6 proteinがMAGI-2と結合し分解を引き起こす。この時PDZ domainが標的部位になっている可能性があり、そのメカニズムを明らかにすることで創薬へつながる可能性がある。その際、今回の一連のPDZ domainの構造決定により、結合部位と考えられている領域において、特徴的な残基が存在したり電荷分布等にそれぞれのPDZ domainの特異性がみられ、機能を考察する上で有益な情報が得られている。	
63	polynucleotide kinase 3'-phosphatase	FHA (forkhead associated) domain	1UJX	released	2004.2.12	polynucleotide kinase 3'-phosphataseは、過酸化物質等によりDNAが損傷を受けた際にそのDNA修復系で働く酵素の一つとして知られている。polynucleotide kinase 3'-phosphataseのN末端側にあるforkhead-associated(FHA)domainの構造を核磁気共鳴法により原子レベルの解像度で決定した。DNA損傷はシグナルとして働き、細胞周期を停止させ、その間に修復を行うチェックポイント機構や、DNA損傷が修復不能の場合は逆に細胞死を選び突然変異を回避する機構が導かれる。このようにDNA修復に關するタンパク質は、非常に重要な役割を果たしており、これらの蛋白質に対する阻害剤を開発することで細胞のアポトーシスの誘導など行うことが可能になる。したがって、がん細胞など増殖制御の効かない細胞の制御が可能となり、これらの病気の薬の開発が可能になるだろう。	
64	Rac/Cdc42 guanine nucleotide exchange factor(GEF) 6	SH3 domain	1UJY	released	2004.2.12	機能未知蛋白質であるが、ドメイン構成から細胞内の情報伝達にならうグアニンスクレオチド交換因子に含まれるSH3ドメインであると考えられる。この蛋白質は、現在までX染色体関連精神脆弱症候群の原因遺伝子として同定されている8個の遺伝子の中の一つであり、この疾病との関連が強く示唆されている(Nature Genetics 26 247 (2000))。今回解析を行ったSH3ドメインの構造をもとにin silico スクリーニングを進めており、この結果をもとにこの蛋白質の本来のターゲットとなる蛋白質の同定および作用機序の解明へと繋がることと期待される。	
65	BCL2-associated athanogene 3	BAG domain	1UK5	released	2004.2.19	EGF制御下、分子シャペロンHsp70やPLC- $\gamma$ と3量体複合体を形成するBAG3 familyのBAG domainの立体構造を解析した。BAG3 familyのBAG domainとしては初めての立体構造である。全体としてはBAG domain特有の $\alpha$ -helixを3本反平行に束ねた構造を持っていた。すでに構造解析されているBAG1、BAG4との比較では、第3ヘリックスが真っすぐではなく、我々の解析したBAG5のBAG domain同様折れ曲がった構造を持っていた。ただ、この場合は第三ヘリックス中にはProは存在しない。また、第一ヘリックスのN端では、BAG5同様His側鎖のイミダゾール環の窒素原子とヘリックス主鎖のアミドプロトンによる新しいタイプのキヤップ構造が見出された。BAG3はストレス下でのHsp70による蛋白質分解をコントロールしていると考えられており、BAG3の発現レベルの上昇はストレス下での蛋白質分解を抑制し、anti-apoptoticに作用することが知られている。そのため、抗がん剤の作用を弱める方向に作用していると考えられる。したがって、BAG3とHsp70との結合の阻害剤を作製できれば、抗がん剤の作用を強めることができると考えられる。	
66	GCN2	RWD domain	1UKX	released	2004.8.3	細胞がアミノ酸飢餓状態や外来のストレスを受けた時、翻訳開始因子(translation initiation factor(eIF2))のあるサブユニットをリン酸化することで、タンパク合成の速度を翻訳レベルで調整する重要な機構が真核生物に存在する。リン酸化酵素は今まで4つ発見されているが、酵母からヒトまで幅広く保存されているのはGCN2と呼ばれるリン酸化酵素のみである。GCN2は異なる機能をもつ4つのドメインからなっている。Kinase domain、HisRS-related domain、ribosome-associated domain、そして今回構造決定を行ったN端に存在する約130残基からなる新規ドメインである。構造的に特筆すべきは一見すると単なるループにみられる部位が、実際は3つのターンの組み合わせからできており、そのループを中心に水素結合ネットワークで構造全体を安定にしていると思われる。このドメイン構造はGCN2のみならず機能が異なる他のファミリーにもみられることから、基本ドメイン構造の一つと考えられる。GCN2は翻訳レベルで調整する非常に重要な酵素であり、このドメインとGCN1が結合することが一連の制御機構には必須ということが判明している。よってさらに研究を進めGCN1との複合体の構造を明らかにする事で、その結合能を促進するあるいは低下させる低分子の設計、あるいは変異体の作製が可能となるだろう。	
67	Squamosa promoter binding protein-like 4	DNA-binding domain	1UL4	released	2004.3.9	高等植物特異的転写因子SBPファミリーの一員であるSPL4のDNA結合ドメイン。このファミリーの転写因子は、花の分化に關わりと考えられており、シロイヌナズナゲノム中にも多数(16遺伝子)存在する。非常にホモロジーの高いDNA結合ドメインを持つが、今までに立体構造は解明されていなかった。今回決定された立体構造により、1つのドメイン中に2つの亜鉛イオンを結合する、極めて新規性の高い構造が明らかにされた。DNA結合の様式も今までに見られない新しいものと考えられる。DNA結合ドメインのアミノ酸を改変することによって、自然界で本来結合しているものとは異なる塩基配列を認識させる試みが以前より行われている。新規のDNA結合ドメイン構造は、この認識の改変に対して新しい基礎を提供し、将来的には、花の開花時期や形状などに対する遺伝的改変の基礎となりうる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
68	SPL7 (Squamosa Promoter Binding Protein-Like 7)	DNA-binding domain	1UL5	released	2004.3.9	高等植物特異的転写因子SBPファミリーの一員であるSPL4のDNA結合ドメイン。このファミリーの転写因子は、花の分化に関わると考えられており、シロイヌナズナゲノム中にも多数(16遺伝子)存在する。非常にホモロジーの高いDNA結合ドメインを持つが、今までに立体構造は解明されていなかった。今回決定された立体構造により、1つのドメイン中に2つの亜鉛イオンを結合する、極めて新規性の高い構造が明らかにされた。DNA結合の様式も今までに見られない新しいものと考えられる。DNA結合ドメインのアミノ酸を改変することによって、自然界で本来結合しているものとは異なる塩基配列を認識させる試みが以前より行われている。新規のDNA結合ドメイン構造は、この認識の改変に対して新しい基礎を提供し、将来的には、花の開花時期や形状などに対する遺伝的改変の基礎となりうる。	
69	Map / microtubule affinity-regulating kinase 3	kinase associated domain 1	1UL7	released	2004.3.10	MARK3を含むMARKファミリータンパクは、Wnt経路シグナル伝達やRas経路シグナル伝達に関与し、細胞の成長、分裂において重要な役割を担うと考えられる。今回解析されたKAI1ドメインはこれらのファミリーにおいて特徴的にC末端部分に強く保存されているが、機能・構造ともに未知であった。構造は新規 $\alpha+\beta$ 構造であり、溶媒露出した疎水領域を取り囲むように塩基性残基が存在しており、この部分で選択的に他のタンパク質と結合するものと考えられる。	
70	RSGI RUH-007	PDZ domain	1UM1	released	2004.3.22	PDZ domainは、神経系に発現するタンパク質に多く含まれるドメインで、主に受容体や細胞同士の接着結合に関わるタンパク質のC末端の細胞内領域の特異的なアミノ酸配列を認識して結合する。また、結合特異性の決定にはcarboxylate-binding loop部分が重要であるが知られている。また、PDZドメイン同士で2量体を形成したり、PIP2と結合するものもある。多くは細胞膜や細胞間接着部位に局在するが、細胞の増殖や分化の段階依存的に核移行が見られるものも多い。本ドメインの構造は典型的PDZドメインによく一致している。タンパク質hsk2001816は全長1114アミノ酸からなり、102残基から205残基にRas associatingドメイン、674残基から783残基にDILドメイン、1015残基から1099残基にPDZドメインがある。哺乳類のデータベース検索ではこれらのファミリー以外に一致するものはない。本PDZ domainの結合因子探索を行い、またRas associatingドメインおよびDILドメインとの関連性も追求する。また、当研究所で構造決定された他の数十種類のPDZ domainを含めた網羅的な機能解析によりPDZ domainの構造活性相関を明らかにすることで、神経系に作用する医薬品の開発に貢献できると期待される。	
71	synapse-associated protein 102	third PDZ domain	1UM7	released	2004.3.24	SAP102は膜結合型 guanylate kinase(MAGUK)のメンバーで、NE(neuroendocrine)-DLGとも呼ばれるように、主に神経に発現しており、増殖能が高い細胞では発現していない。SAP102はSec8と結合し、シナプス後膜の主要な受容体であるN-methyl-D-aspartate receptor(NMDARs)の輸送に関係している。構造解析されたPDZドメインは3つあるPDZのうちの3番目のドメインであり、6本の $\beta$ ストランドと2本の $\alpha$ ヘリックスよりなる典型的なPDZ構造をとっていた。	
72	U1C		1UW2	released	2004.9.24	スプライシング反応において5'スプライシング部位の決定を行うU1snRNP(U1蛋白質RNA複合体)は、160残基のRNAと10個の蛋白質成分から構成されている。U1C蛋白質は、その構成成分のひとつでU1snRNPによるpre-mRNAの5'スプライシング部位の認識に直接関与することが示唆されている。今回、この蛋白質のRNA結合部位および蛋白質結合部位を含む部分についての立体構造を明らかにした。これにより、C2H2タイプのZn結合モチーフのC末端部分の特徴的なヘリックスターンヘリックスを持つことが明らかになった。Zn結合モチーフをもつ蛋白質によるRNA認識を高次構造のレベルで明らかにされた例はなく、今回の構造をもとにRNA結合のメカニズムを明らかにするが期待される。	
73	RIM2	first C2 domain	1V27	released	2004.4.7	RIM2は脳の発生の初期段階において発現するタンパク質で、N-末端にGTP結合タンパク質であるRab3と結合するためのzinc fingerを持ち、中心にPDZドメイン、C-末端側に2つのC2ドメインを持っている。NMRによる原子レベルの高分解能で立体構造を決定したC2ドメインは、Ca <sup>2+</sup> がトリガーとなり開口放出として機能するタンパク質に多く見られる。RIM2もCa <sup>2+</sup> により、シナプス小胞から細胞外への神経伝達物質の放出に関与しているが、今回決定したC2ドメインはCa <sup>2+</sup> 非依存のものであり、RIM2のC2ドメインの機能はまだわかっていない。高分解能の立体構造解析により詳細な機能解明が可能になった。原子レベルの高分解能立体構造により、RIM2のC2ドメインの詳細な機能解析が可能になったと考えられる。すなわち、C2ドメインに結合しうる分子をコンピュータによる計算から明らかにすることができるようになり、より正確なRIM2の機能解明につながるものと期待される。また、神経伝達系に関与するタンパク質の高分解能の立体構造は、脳に関連する医薬への応用に大きく貢献できるものと考えられる。	
74	hypothetical gene (RIKEN cDNA 3300001G02) product	ubiquitin-like domain	1V2Y	released	2004.4.17	高等動物植物が普遍に持つ小さいタンパク質で、全長123アミノ酸残基であり、全タンパク質は一つのドメインで構成されている。本タンパク質は広範に保存されている。本解析ドメインはN末端からの328#12316:123残基目の部分にある。構造解析で明らかになったフォールドは典型的なユビキチンと異なり、構造上に $\beta 1$ と $\beta 2$ の間のループは3残基ほど長い、またヘリックス1が7残基ほど長い、さらにヘリックス1とヘリックス2の間のループは長いかつ収縮度が低い。また、この領域にLys <sup>+</sup> が数多く存在し、一つプラスのチャージをもつポケットを形成している。	
75	hypothetical protein At5g14170	SWIB/MDM2 domain	1V31	released	2004.4.21	今回解析したSWIBドメインは、BAF60のSWIBドメインと相同性がある。BAF60は、クロマチン再構築によって転写活性を促す働きをもつSWI/SNF複合体の構成因子であるBAFs(BRG1-associated factors)のひとつである。BAF60のSWIBドメインは、タンパク質間相互作用の機能をもつことが推測されている。本解析ドメインの構造は、 $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ のトポロジーをもち、PDB ID 1YCRと同じフォールドである。	
76	hypothetical protein At5g08430	SWIB/MDM2 domain	1V32	released	2004.4.24	今回解析したSWIBドメインは、Arabidopsisから由来する未知のタンパク質の一部で、BAF60のSWIBドメインと相同性がある。BAF60は、クロマチン再構築によって転写活性を促す働きをもつSWI/SNF複合体の構成因子であるBAFs(BRG1-associated factors)のひとつである。BAF60のSWIBドメインは、タンパク質間相互作用の機能をもつことが推測されている。また、ArabidopsisやChlamydiaでは、このSWIBドメインが単独でみつまっているが、このときのSWIBドメインの機能はわかっていない。本解析ドメインの構造は、 $\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha\beta\alpha$ のトポロジーをもち、PDB ID 1YCRと同じフォールドである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
77	SAMS1	SAM (Sterile alpha motif) domain	1V38	released	2004.4.29	構造は他のsterile $\alpha$ motif (SAM) ドメインと似ていた。SAMドメインは、レセプターオリゴメリゼーションや発達調節などの様々な生物機構に関わっていると思われる。	
78	Pleckstrin2	DEP domain	1V3F	released	2004.4.30	Pleckstrin2 はシグナル伝達系タンパク質で、アダプタータンパク質の一種と考えられ、細胞骨格に影響を与えると推測されている。 $\alpha\alpha\alpha\beta\beta$ 構造でpleckstrin (mmt007020427:DEP) の同じドメインと比較して、N末の $\beta$ -sheetが長いループになっている。三本のヘリックスは、three-helix bundleと呼ばれる疎水性のコアを形成している。	
79	RSGI RUH-008	fn3 (fibronectin type III) domain	1V5J	released	2004.5.25	糖タンパク質fibronectinは細胞表面で細胞外マトリックスと細胞膜の橋渡しして機能する他、発生段階では細胞の遊走や接着に関わる重要なタンパク質として機能する。Fibronectinはその機能と構造からtypeI, typeII, typeIIIに分類される。本ドメインは普遍的に見られるtypeIIIであり、その構造は典型的typeIIIの構造とよく一致する。このタンパク質は5つのimmunoglobulinドメイン、2つのfibronectin type IIIドメインに続き、1つの膜貫通領域を持つ。この構造から、immunoglobulinスーパーファミリーに分類され、脳の発生段階に関与し、細胞表面受容体として機能していると考えられる。本ドメインの構造とその機能を明らかにすることにより、免疫系医薬品開発に大きく貢献できると期待される。	
80	EB-1	CH(calponin homology) domain	1V5K	released	2004.5.25	本タンパク質は、大腸腺腫ポリープ (APC) 抑制タンパク質に結合するタンパク質としてyeast two-hybridで同定された。その後の研究でEB1は、微小管の+端に結合し、生体中での物質輸送や細胞分裂の際の紡錘体の形成を担っている微小管のダイナミクスに関与することが示唆されている。解析対象となったCHドメインはF-アクチンの結合モチーフとしてよく知られており、特にこのEB-1のCHドメインは、微小管に直接結合することが示されている。構造は、6本のヘリックスからなり、典型的なCHドメインの骨格を持っていた。1、3、4、6番目のヘリックスによってタンパク質のコアが形成されている。	
81	Alpha-actinin-2 associated LIM protein	PDZ domain	1V5L	released	2004.5.25	ALPは筋肉および心臓で発現されており、ALPをノックアウトしたマウスでは心室肥大などによって、肉柱形成の減少を引き起こす。今回解析されたPDZドメインはこのタンパクのN末端にあり、 $\alpha$ アクチニン2、筋特異的細胞骨格タンパク質のspectri様リピード領域に結合することが知られており、その結合を理解することは、拡張型心筋症の治療にも役立つと考えられる。	
82	Aps	PH (pleckstrin homology) domain	1V5M	released	2004.5.25	マウス由来タンパク質APSは、骨格筋肉、脂肪組織などに分布し、N末端にPHドメイン、C末端にSH2ドメインをもつアダプタータンパク質である。PH、SH2ドメイン以外に、いくつかチロシン酸化部位と思われる部位をもつ。APSはB-cell レセプター、インシュリンレセプター、PDGF レセプターなどの基質であり、またタンパクc-CblおよびCAPと結合する。そのため、APSはCAP/Cbl pathwayをインシュリンレセプターとリンクさせ、インシュリン刺激による糖輸送に重要な役割を果たすと思われる。in vivoとin vitro結合実験より、本PHドメインはグアニンヌクレオチド交換因子であるVav3のN末端のCHドメインと結合することが報告されている。PHドメインはCHドメインに結合することにより、CHドメインの自己阻害作用を弱め、Vav3のtransforming activityを増大する。APSと結合するVav3はoncoprotein Vav ファミリーのメンバーであり、c-Cblはtransforming v-Cbl oncogeneのcellular homologである。	
83	PDI-like protein	DC1 domain	1V5N	released	2004.5.25	578残基からなる、植物からのみコードされた特有のタンパク質である。アミノ酸配列からPDI-like proteinとのあのテーションがつけられているが、発現の局在や機能はまだ確実な事は解っていない。今回解析したドメインはPDI-like proteinのC末端に位置するDC1 (植物のみで見つかったDAG_PE-BIND)である。DC1ドメインに関する機能情報はまだ報告されていないが、本ドメインと似たC1 (ヒトやマウスで見つかったDAG_PE-BIND)は、phorbol esterと相互作用することが知られている。DC1ドメインではphorbol esterとの結合サイトがマスクされており、C1ドメインとは異なる機能を持つことが示唆される。本タンパク質は新規のフォールドを有していることが分かった。既にPDB登録されているC1ドメインとの構造比較を行ったところ、今回のDC1の構造はC1のN末にlong helixが加わったフォールドをしていることが分かった。	
84	hypothetical 1700011N24Rik protein	ubiquitin-like domain	1V5O	released	2004.5.25	マウス及びヒトを持つタンパク質で、全長408アミノ酸残基であり、N末端から1~79残基目はユビキチンドメインと245~350残基目はretroviral aspartyl proteaseから構成されている。解析ドメインのアミノ酸一次配列から立体構造を予測するのは困難であるため、今回新しい構造を決めたことは大変意義がある。本タンパク質のドメイン構成は既知のユビキチン様ドメインを持つproteasome-interaction motif (PIM)-containing proteinsとよく似ていることから、その仲間の一つではないかと考えられる。本タンパク質のフォールドは典型的なユビキチンと異なり、構造上にシート1とシート2の間のループが7残基ほど長い。シート1、シート3、シート4、シート5によって形成されている平面の上にはユビキチンと同じようによく保存されている疎水性アミノ酸残基が数多く存在し、一つ疎水性パッチを形成しており、かつ溶媒に露出している。UBA、UIM、UEV、VHS、CUEは溶媒に露出された保存性の高い疎水性残基によって形成されたユビキチン結合モチーフを持つタンパク質である。本タンパク質はこれらのユビキチン結合モチーフと結合する可能性が高いと考えられる。つまり、溶媒に露出する疎水性パッチのところで基質であるユビキチン結合モチーフと相互作用するだろうと予測できる。	
85	TAPP2 (Tandem PH domain containing protein*2)	N-terminal PH (pleckstrin homology) domain	1V5P	released	2004.5.25	マウス由来の全長タンパク質TAPP2は、各組織に広く分布し、とりわけ心臓と腎臓に大量に分布する。TAPP2はタンデムに並ぶ2PHドメインからなり、今回解析したのはそのN端のPHドメインに対応する。TAPP2の分子機能は未知だが、そのC端のPHドメインがPI3KのセカンドメッセンジャーのPI(3,4)P2と高い親和性を持って結合することが興味深い。また、TAPP2のC末端アミノ酸残基のSDVが、タンパクMUPP1の10個目と13個目のPDZドメインとin vivo結合することが報告されている。本解析ドメインは典型的なPHドメインフォールドをとっている。このドメインはすべてのPIPアナログと結合しないことが、protein-lipid overlay assayおよびsurface-plasmon-resonance実験から証明されている。しかし、全長のTAPP2とPI(3,4)P2との結合が、単独のC端PHドメインとPI(3,4)P2との結合より5倍ほど強いことから、本ドメインの存在がこの結合に寄与すると考えられる。TAPP2の遺伝子は、retroviral tagging手法により、癌に関係する新規遺伝子として検出されている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
86	GRIP (glutamate receptor-interacting protein)	PDZ domain	1V5Q	released	2004.5.25	glutamateレセプターと相互作用し、ニューロンのシナプスの輸送やレセプターの集合に重要である。このドメインはペプチドに直接結合するのではなく、他のPDZドメインを安定化させることにより、ペプチドとの結合を促進させる。	
87	Growth Arrest Specific 2 (Gas2)	GAS2 domain	1V5R	released	2005.1.18	慢性糸球体腎炎や糖尿病性腎症は糸球体の硬化をきたし、腎不全へと移行すると考えられている。これらの慢性糸球体疾患においてはメサンギウム細胞の増殖、肥大、活性化と、それに続く細胞外マトリックスの増生が病変の進展増悪に重要とされている。このメサンギウム細胞活性化の分子機構を明らかにし、その知見を治療に応用することができれば、腎疾患の進展増悪を予防できる可能性があると考えられる。この過程において重要な働きをする分子としてVitamin K依存性蛋白であるGas6 (growth arrest specific gene 6) という分子の高いホモロジーを持つGrowth Arrest Specific Domain 2の立体構造解析を行った。2本のヘリックスと5本のストランドから構成され、サンドイッチ型の構造をとる全く新規のフォールドである。Growth Arrest Specific Domain 2が慢性糸球体疾患に関わる可能性を示唆する可能性がある。また、本研究で行われる立体構造解析の推進により慢性糸球体疾患等の病因を解明するだけでなく、Growth Arrest Specific Domain 2の構造とその機能との関連を明らかにすることが出来る。	
88	Map / microtubule affinity-regulating kinase 3	kinase associated domain 1	1V5S	released	2004.5.25	Ras GTPaseは多細胞生物中のセルの増殖および分化において重要な調整装置である。Rasタンパク質が多くの細胞内シグナルを伝達する主なルートは、細胞質のセリン/トレオニンキナーゼRaf-1、MEKおよびMAPKの連続する活性化を通して行われる。この機構の主要なタンパク質や、この機構に関与しているタンパク質の機能的な役割や、他のタンパク質への上位関係はかなり詳細に特徴付けられているにもかかわらず、まだ十分にRasシグナル伝達についてわかっていない点が多くある。不活性化タンパク質構造のメンテナン스에寄与するC-TAK1およびV14-3-3のようなタンパク質は、細胞の重要な調整装置であると予想される。また、C-TAK1によるRas/MAPKシグナル伝達の機構は、基本的な細胞のプロセスにおいて、複雑に規格化されたメカニズムが使用されていることを示している。これらのタンパク質に含まれる基本ドメイン構造を解析することは、リン酸化がシグナル伝達のカスケードに関与する個々の要素を単純に調整しているというよりは、キーとなるタンパク質の細胞生物学的なパラメータにどのように影響を与えているかを説明できる助けとなるだろう。	
89	hypothetical 8430435117Rik protein	ubiquitin-like domain	1V5T	released	2004.5.25	マウス及びヒトが持つタンパク質で、全長318アミノ酸残基であり、N末端から3~79残基目はユビキチンドメインと129~306残基目はNLI interaction factor ドメインから構成されている。本タンパク質のフォールドは典型的なユビキチンと異なり、構造上にシート3とシート4の間のループが長く、且つ収束性が低い。この領域にはプラス電荷を持つ残基 (Lys) が多いため、プラス電荷を持つポケットが存在している。それはマイナス電荷を持つ基質と相互作用をする部位であろうと予測できる。	
90	Sbf1 (SET binding factor 1) or MTMR5 (myotubularin-related*5)	PH (pleckstrin homology) domain	1V5U	released	2004.5.25	マウス由来の全長タンパク質は、Sbf1 (SET binding factor 1) として知られ、細胞の成長と分化にかかわると思われる。具体的に、SETドメイン結合、コイルドコイル領域による二量体化などの機能が挙げられる。今回解析したドメインはSbf1のC端のPHドメインに対応する。構造は典型的なPHドメインフォールドであった。TOPIS in vivo アッセイにより、ヒトに対応する本解析ドメインは、PI(3,4)P2とPI(3,4,5)P3と高い親和性(Kd<1μM)で結合することが報告されている。マウス由来の本ドメインにも、塩基性残基が集中する領域があり、それがPI(3,4)P2およびPI(3,4,5)P3との結合ポケットであると思われる。Sbf1欠損オスマウスは生殖力欠如、無精子症といった症状が現れ、Sbf1は精子形成と生殖細胞分化に関係すると思われる。また、Sbf1のコイルドコイル領域と結合するMTMR2の遺伝子に変異が入ると、神経変性、タイプ4B1 シャルコーマリートウース病が起ることの報告がある。	
91	BolA1		1V60	released	2005.1.18	BolAタンパク質は、すべての真核生物および一部のバクテリアにみられるタンパク質のファミリーである。このファミリーに属するタンパク質は共通したフォールドをとっているが、表面保存残基の多様性からさまざまな機能をもっていると考えられる。マウスBolA1を含め、BolAタンパク質はそのほとんどが1ドメインから成っている。かねてよりBolA2の立体構造でわかっていたとおり、class II KHに似たフォールドをとっているが、KHに広く保存しているGXXGループはない。GXXGループに対応する部分はBolAではHTHモチーフをとっており、この部分を含む側に表面保存残基が多い。また、BolA1と近縁のホモログにおいてよく保存しているβ1/β2ループとC末端は、立体構造をとっていないことがわかった。C末端はBolA2に比べて長く、βシートに貼りついており、結果としてβ1/β2ループとC末端は立体構造上近づいている。ポケットとしては、強いて言えばβシートの側面、HTHによる突起とC末端のヘリックスにはさまれた領域が挙げられる。相互作用部位は、他のBolAタンパク質との保存性から考えるとHTHの近傍およびβ1/β2ループとC末端が可能性が高い。	
92	alpha-PIX (also known as Cool-2 or ARHGEF)	PH (pleckstrin homology) domain	1V61	released	2004.5.26	α-PIXは、Cdc42/Rac1 (Rho-family GTPase)のGEFとして働くとともに、PAK (Cdc42/Rac1-activated kinase: Cdc42/Rac1によって活性化される下流シグナル分子)と相互作用することでPAKを活性化する。PAKシグナルは、主に細胞骨格形成の制御に関与することが知られていことから、α-PIXも細胞骨格形成を制御するシグナル伝達系の分子の1つであるといえる。本タンパク質はRho-GTPaseのGEFとして知られたDb1 ホモロジードメインを含み、これはタンパク中でDH-PHタンデムドメイン構成を取ることが知られている。当該タンパクドメインは、α-PIXのDH-PHタンデムドメイン中のPHドメインである。α-PIXは、PtdIns(3,4,5)P3が結合することで、分子の持つGEFの機能が活性化されることが知られている。同時にこの活性化は、PHドメインの欠損変異体では、みられない。このことは間接的に、PHドメインにPtdInsが結合することを示すものである。本タンパク質遺伝子は、神経薄弱症の一種 (MRX46: X-linked forms of mental retardation X染色体上の遺伝子が原因と考えられる神経薄弱症)の原因遺伝子として同定されている。男性発病者において、αs-PIXのイントロン1に1塩基変異の導入がみられ、スプライシング異常が起こることが示されている。なお、イントロンに対応するのは、CHドメインのコーディング領域である。本ドメインの立体構造は、βββββββαのトポロジーを持つ典型的PHドメインである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
93	KIAA1719 / GRIP2 (glutamate receptor interacting protein 2) / ABP (AMPA receptor binding protein)	PDZ domain	1V62	released	2004.5.27	グルタミン酸受容体の一つであるAMPAレセプターのC末端(ESVKI)に結合するタンパク質として同定された。7つ(3+3+1)のPDZドメインを持ち、3、5、6番目のドメインは単独でAMPAレセプターのC末端に結合できる。これまでの知見では、AMPAレセプターのC末端付近にあるS880のPKCによるリン酸化が何らかの調節に関わっており、GRIPはこの部位に直接結合することにより、このリン酸化を阻害する。本研究の対象は、3番目のPDZドメインである。	
94	UBF(upstream binding factor)1	HMG (high mobility group) box	1V63	released	2004.5.27	UBFはRNAポリメラーゼIによる転写にかかわる転写因子である。同じRNAポリメラーゼIの転写因子であるSL1がrRNAに効果的に結合するためにUBFが必要とされる。UBFには6つのHMG boxが含まれており、DNA結合や転写活性化においてそれぞれ異なる機能を持っている。UBFの6つのHMG boxのうち、6つ目のHMG boxである。転写活性化に必要とされる。UBFは生体内で心臓の異常成長に関与することが示唆されている。	
95	UBF(upstream binding factor)1	HMG (high mobility group) box	1V64	released	2004.5.27	UBFはクラスI(rRNA)転写系の基本転写因子の一つである。rRNA遺伝子のプロモーター領域(UpstreamとCoreの2領域からなる)の上流側に結合するのがUBFであり、この結合に伴いTBP(TATA-binding protein)やTAFs(TBP-associated factors)をコアプロモーター領域に誘導し、転写活性が飛躍的に増大する。DNA結合モチーフであるHMG-boxを6個有し、C末端には特徴的な酸性領域を有する。4番目のboxは進化上Xenopusでは無く(Drosophilaにはある)、哺乳類では2番目のboxが失われたスプライシングバリエーションが以前から知られている。今回構造解析を行ったのは6つあるHMG-boxの3番目。HMG-boxはDNA結合ドメインであり、他のタンパク質由来のものを含めた多くの解析から、このドメインは結合に伴ってDNAの構造を大きく変化させる(bending, unwindingなど)ことが知られている。UBFタンパク質については、1番目のboxのみで十分にDNAに結合するという報告もあり、6つ並んでいるという点は興味深い。立体構造的には、既知のHMG-boxと比べ側面とC末端に第4のヘリックスが追加されている点がユニークである。これまでの他のHMG-boxでの解析結果から、L字型の内側の面がDNA結合面である。	
96	RIKEN cDNA 2610044015 protein	KRAB (Kruppel-associated box) domain	1V65	released	2004.6.1	KRABドメインはKruppelタイプのzinc fingerに隣接するモチーフで、このドメインをコードする遺伝子はヒトあるいはマウスのゲノム上に数十から百数十クローン確認されている。今回は、そのうちの一つのタンパク質のKRABドメインの立体構造をNMRを用いて決定した。多くのKRABドメインはKRAB associated protein 1 (KAP1)タンパク質との相互作用が報告されているので、この作用はKRABドメインにおいて普遍的なものであると考えられる。KAP1はヘテロクロマチンタンパク質(HP1)を介してヌクレオソーム近傍に局在すると考えられ、KRAB-KAP1-HP1-ヌクレオソームという巨大複合体がヘテロクロマチン化を引き起こすと推測される。ヘテロクロマチン化は遺伝子発現を抑制する方向に働くので、KRABドメインのKAP1相互作用部位特異的なリガンドの作製により、不活化が疾患原因となっている遺伝子の発現を回復させる薬の開発が期待される。	
97	SUMO1ligase PIAS-1	p53 binding domain	1V66	released	2004.12.7	癌抑制因子p53は様々な遺伝子の転写因子として作用し、細胞の癌化の抑制において重要な役割を担っている。近年p53のSUMOリガーゼ(E3)としてPIAS1が同定され、SUMO化がp53の活性化に関与することが示唆されている。今回解析対象としたp53結合部位の一つであるN末端領域(1-65残基)の立体構造は、4本ヘリックスバンドルであるが、up-and-down-loop-down-and-upのトポロジーを持つユニークな構造であった。	
98	Harmonin	third PDZ domain	1V6B	released	2004.5.28	ホルモンタンパク質は難聴の原因遺伝子のひとつと言われている。このホルモンタンパク質には3つのPDZドメインが存在する。3番目のPDZドメインはホルモンタンパク質の末端に位置しており、特有のペプチドが結合することが報告されている。しかしながら、このPDZドメインの構造はまだ報告されていないため、詳しい結合メカニズムは未だに解明されていない。そこで、本実験ではペプチド結合モデルへの発展を視野に入れ、このPDZドメインの立体構造を明らかにした。分子原子レベルでのPDZドメインの構造解析を試みたことで、創薬ターゲット、つまりペプチド結合部位を予測することが可能となった。今後はコンピュータを用いた結合モデルのシミュレーションや種々の実験によって、ホルモンタンパク質の3番目のPDZドメインの結合メカニズムが明らかになることが予想される。これは新薬創造、つまり、難病克服の重要な一歩である。	
99	ubulin-specific chaperone B	ubiquitin-like domain	1V6E	released	2004.12.14	マウス及びヒトが持つタンパク質で、全長244アミノ酸残基であり、N末端から11~92残基目はユビキチンドメインと183~225残基目はCAP-Glyドメインから構成されている。ヒトが持つ本タンパク質はGene mapの19q13.11-q13.12のところにあり、本タンパク質は胎児の脳のcDNAライブラリから分離され、その中に多くの細胞骨格関連タンパク質の間で高く保存されている。CAP-Glyドメインが含まれている。基本的にはCAP-Glyドメインは微小管と結合すると思われる。Northern-blot分析中にサイズ1.0、3.4、4.6kbの3つの転写産物がすべての組織中に現れるが、その中のサイズ1.0kbの転写産物は他の組織より脳と心臓で著しく多い。ただ、N末端にある本解析ドメインはCAP-Glyドメインの微小管と結合する過程に参与するかどうかについては既前の文献から見出されていない。本解析ドメインのアミノ酸一次配列から立体構造を予測するのは困難であるため、今回新しい構造を決めたことは大変意義が有ると考えられる。本タンパク質のフォールドは典型的なユビキチンと異なり、構造上にシート3とシート4の間のループが5残基ほど長い。本タンパク質はユビキチンと二次構造のアライメントをする時に、配列の相溶性が低いが、構造上に対応している残基の中に四つのLys+(ユビキチンから11K、27K、29K及び48K)がよく保存されている。48Kが多く、基質に作用し、プロテオソームを介したタンパク質分解に大きく寄与していると報告されている。	
100	glia maturation factor, beta	cofilin-ADF (actin-depolymerization factor)	1V6F	released	2004.5.29	グリア成熟因子由来cofilin-ADF (actin-depolymerization factor)の構造解析により、F-およびG-アクチンの結合部位が明らかとなった。Cofilinと非アクチン細胞成分との相互作用により、多くの細胞情報伝達カスケードが調節され、シグナル認識と細胞刺激となる細胞骨格の再構築の促進がメディエートされる。細胞刺激を引き起こすシグナル伝達カスケードを理解することで、脳機能の理解が促進される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
101	Actin Binding LIM Protein 2 (K1AA1808)	LIM domain	1V6G	released	2004. 6. 1	細胞骨格の構築や維持に関わっており、アクチン繊維とcytoplasmic targetsとの相互作用に介在するとされている。本タンパク質のC末に在るVHPドメインがFアクチンと相互作用することが分かっている。本LIMドメインには、三量体を形成する為に必須なシステインが無く、配列から二量化していると考えられている。本LIMドメインに関する疾患等の情報は報告されていないが、これまでに報告されているactin binding LIM proteinに関して言えば、拡張型心筋症に関する報告がある。	
102	ubiquitin		1V80	released	2005. 2. 15	全長76残基の立体構造。1V80は30気圧、1V81は3000気圧における構造である。ユビキチンは、翻訳後修飾により、目的蛋白質に共有結合し、蛋白質分解から細胞内輸送・局在の制御まで極めて多くの生理機能に関係している。よって、その機能サイクルの異常は、直接疾患に関わる。例えば、蛋白質分解に異常が生じると、不要蛋白質が細胞内に蓄積し、パーキンソン病などの神経変性疾患を引き起こす。科学的な重要性は、その機能の多様性からも極めて高いといえる。しかしながら、本成果は、生物学的な重要性だけでなく物理化学的な重要性も指摘するものである。最も科学的に重要な点は、圧力可変NMR法により、既存のX線結晶構造解析やNMR法では検出することができない、蛋白質の高エネルギー状態の立体構造解析に成功した点である。生体内で活動する蛋白質は溶液中にあり、最安定構造から変性構造までの多様な構造の熱力学的平衡状態にあるが、既存のX線結晶構造解析やNMR法は、その最安定構造を決定しているに過ぎない。蛋白質の高エネルギー構造を原子レベルで検出する方法論は、圧力可変NMR法を含め2-3存在するが、立体構造解析まで可能にしたのは、我々が独自に開発した圧力可変NMR法のみであり、極めて独創的な方法である。天然構造よりも高エネルギー構造の方がより機能に優れた構造やダイナミクスを有している例が多く見つかっていることから、高エネルギー状態の立体構造解析により得られる情報は、極めて重要である。1V80、1V81は、30barと3000barにおける構造で、生きている蛋白質の実体、すなわち環境に応じてかたちを変えて働く「動的描像」のスナップショットといえる。1気圧の構造と似て非なるものである。蛋白質工学的観点でも極めて独創的な発想を与える結果である。蛋白質は、天然構造から、より機能に適した活性型構造へかたちをかえることにより、機能すると考えられている。圧力可変NMR法は、蛋白質の構造間の体積差に注目し、天然構造から変性構造までの全ての構造を順に安定化し、NMRでの構造解析を可能にする。この方法により、含まれる蛋白質構造とその分布率、すなわちエネルギー地形の全体像が明らかになる。我々のこれまでの研究から、蛋白質は分子進化の過程で、天然状態の立体構造だけを設計しているのではなく、そのエネルギー地形を設計していることを突き止めた (Kitahara et al PNAS submitted)。すなわち、蛋白質機能の設計は、そのエネルギー地形を設計することにより可能となるという発想である。最近になり、変異における蛋白質機能の可変は、構造間の分布率平衡の変化により説明できることが報告された (Nature 2005)。この事実は、我々の考えを裏付ける。既存の分類学上の新規性はない。しかし、蛋白質構造を基本フォールド構造をもとに博物学的に分類することは、その構造や機能の類似性を評価する1つの計りになるが、不完全な分類法である。今後は、その天然構造のみでなく、高エネルギー構造を含めた広い構造空間におけるエネルギー地形の類似性の評価が必要となるだろう。5) 産業的には、高機能蛋白質の工学設計や、高エネルギー構造を含めた蛋白質構造のデータベースが考えられる。例えば、天然構造だけでなく高エネルギー構造を含めて結合可能物質を検索することで、より効率的、合理的な薬物設計が可能になる。またこれまでの基本フォールドの座標情報だけでは説明できなかった構造と機能の分類が可能になれば、エネルギー地形の比較をもとにした機能予測が可能になるなど、このデータベースはバイオインフォマティクスの手法による蛋白質科学分野にも新しい情報を提供できると考えている。1V80、1V81の2つの構造は、揺れ動く蛋白質構造のスナップショットであり、常圧の構造とは似て非なるものである。	
103	ubiquitin		1V81	released	2005. 2. 15	全長76残基の立体構造。1V80は30気圧、1V81は3000気圧における構造である。ユビキチンは、翻訳後修飾により、目的蛋白質に共有結合し、蛋白質分解から細胞内輸送・局在の制御まで極めて多くの生理機能に関係している。よって、その機能サイクルの異常は、直接疾患に関わる。例えば、蛋白質分解に異常が生じると、不要蛋白質が細胞内に蓄積し、パーキンソン病などの神経変性疾患を引き起こす。科学的な重要性は、その機能の多様性からも極めて高いといえる。しかしながら、本成果は、生物学的な重要性だけでなく物理化学的な重要性も指摘するものである。最も科学的に重要な点は、圧力可変NMR法により、既存のX線結晶構造解析やNMR法では検出することができない、蛋白質の高エネルギー状態の立体構造解析に成功した点である。生体内で活動する蛋白質は溶液中にあり、最安定構造から変性構造までの多様な構造の熱力学的平衡状態にあるが、既存のX線結晶構造解析やNMR法は、その最安定構造を決定しているに過ぎない。蛋白質の高エネルギー構造を原子レベルで検出する方法論は、圧力可変NMR法を含め2-3存在するが、立体構造解析まで可能にしたのは、我々が独自に開発した圧力可変NMR法のみであり、極めて独創的な方法である。天然構造よりも高エネルギー構造の方がより機能に優れた構造やダイナミクスを有している例が多く見つかっていることから、高エネルギー状態の立体構造解析により得られる情報は、極めて重要である。1V80、1V81は、30barと3000barにおける構造で、生きている蛋白質の実体、すなわち環境に応じてかたちを変えて働く「動的描像」のスナップショットといえる。1気圧の構造と似て非なるものである。蛋白質工学的観点でも極めて独創的な発想を与える結果である。蛋白質は、天然構造から、より機能に適した活性型構造へかたちをかえることにより、機能すると考えられている。圧力可変NMR法は、蛋白質の構造間の体積差に注目し、天然構造から変性構造までの全ての構造を順に安定化し、NMRでの構造解析を可能にする。この方法により、含まれる蛋白質構造とその分布率、すなわちエネルギー地形の全体像が明らかになる。我々のこれまでの研究から、蛋白質は分子進化の過程で、天然状態の立体構造だけを設計しているのではなく、そのエネルギー地形を設計していることを突き止めた (Kitahara et al PNAS submitted)。すなわち、蛋白質機能の設計は、そのエネルギー地形を設計することにより可能となるという発想である。最近になり、変異における蛋白質機能の可変は、構造間の分布率平衡の変化により説明できることが報告された (Nature 2005)。この事実は、我々の考えを裏付ける。既存の分類学上の新規性はない。しかし、蛋白質構造を基本フォールド構造をもとに博物学的に分類することは、その構造や機能の類似性を評価する1つの計りになるが、不完全な分類法である。今後は、その天然構造のみでなく、高エネルギー構造を含めた広い構造空間におけるエネルギー地形の類似性の評価が必要となるだろう。5) 産業的には、高機能蛋白質の工学設計や、高エネルギー構造を含めた蛋白質構造のデータベースが考えられる。例えば、天然構造だけでなく高エネルギー構造を含めて結合可能物質を検索することで、より効率的、合理的な薬物設計が可能になる。またこれまでの基本フォールドの座標情報だけでは説明できなかった構造と機能の分類が可能になれば、エネルギー地形の比較をもとにした機能予測が可能になるなど、このデータベースはバイオインフォマティクスの手法による蛋白質科学分野にも新しい情報を提供できると考えている。1V80、1V81の2つの構造は、揺れ動く蛋白質構造のスナップショットであり、常圧の構造とは似て非なるものである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
104	bifunctional apoptosis regulator	SAM (Sterile alpha motif) domain	1V85	released	2005. 1. 25	アポトーシスの調節因子で、Bax誘導性の細胞死とFas誘導性細胞死の両方を抑制する。Bax誘導性の細胞死の抑制にはSAMドメインが関わっており、Bel-2やBel-XLと相互作用してアポトーシスを抑制する。一方、Fas誘導性細胞死抑制には、DED-likeドメインのカスパーゼ前駆体との相互作用が関わっている。また、このBARを介してProcaspase-8とBel-2とタンパク質複合体を形成する。SAM(Sterile $\alpha$ motif)ドメインは、真核生物(酵母〜ヒト)で進化的に保存されている。	
105	D7Wsu128E protein	ubiquitin-like domain	1V86	released	2004. 6. 29	この全長タンパク質に予測されたドメインは、本研究で解いたユビキチンドメイン以外に予測されたものがない。また、BLAST検索のtopホモログの中にユビキチン結合タンパク質があがっていることから、このタンパク質もそのような機能がある可能性が高い。	
106	Deltex2	Ring-H2 finger domain	1V87	released	2004. 6. 29	Notchは、無脊椎動物から脊椎動物まで細胞の分化決定に関与し、Deltaファミリーのリガンドとの相互作用によって細胞内へとシグナルを開始する細胞表面分子である。ヒトやマウスなど哺乳類では4種類のNotchファミリー分子がある。そのうち、Notch-1が免疫・血液細胞の分化調節に関わり、前駆体細胞からTリンパ球あるいはBリンパ球への分化方向決定に関与する分子である。Notch-1の機能欠損はHIVやリウマチ免疫疾患に深く関与している。本タンパク質DTX2を含むDTXsファミリーは核タンパク質であり、Notchに関わっているとされている。DTX2のN末端にNoct ankyrin repeatsに結合するドメインがあり、C末端にはring fingerドメインが存在する。このDTXはNotch1のシグナリングを抑えて、B細胞への分化の方向決定を促す。RBJを経由するシグナル経路と異なる経路で、DTXがNotch1を制御していると考えられている。一方、本タンパク質DTXは、ubiquitin-protein isopeptide ligase activity(E3)を持つことが知られており、このE3に対するE2 enzymeとして147残基からなるUbcH5aが同定されている。解析対象ドメインであるring fingerドメインはDTXsファミリーおよびそれに関連するファミリーで良く保存されている。このring fingerドメインはE3としての機能を有することが知られている。即ち、本ドメインはE2であるUbcH5aと相互作用する。本構造はZ N結合能をもつRing-H2 fingerであり、これまで報告されているZN coordinationと一致していた。しかしながら、本タンパク質は新規のフォールドを有していることが分かった。DTXs proteinの異所発現は筋発生、神経発生および lymphogenesisに関わる疾患に関与することが知られている。DTXと結合する化合物を見出すことが出来れば、それをリード化合物としてNotch1の活性化制御を狙った規の抗免疫疾患薬として開発が期待できる。	
107	KIAA1451or ORP8 (Oxysterol-binding-protein related protein8)	PH (pleckstrin homology) domain	1V88	released	2004. 6. 29	ヒト由来の全長タンパク質KIAA1451/ORP8は、OSBP (oxysterol binding protein)-related proteinファミリーに属し、PHドメインと脂質結合ドメインからなる。一般的に、ORPタンパクは、脂質代謝、小胞輸送、細胞情報伝達など多様な細胞プロセスをコントロールすると思われる。OSBPのPHドメインと同じように、本解析ドメインもゴルジ体特異的PHドメインとして、タンパクをゴルジ体膜にリクルートすると思われる。Global gene expression technologyにより、KIAA1451は、膵臓がんで強く発現している遺伝子として検出された。構造は典型的なPHドメインフォールドをとっているが、 $\beta$ 6と $\beta$ 7間に20数残基からなる長めのループがある。塩基性残基が集中する領域があり、それがPIPのアナログと結合するポケットであると推定される。	
108	KIAA0053	PH (pleckstrin homology) domain	1V89	released	2004. 6. 29	全長タンパク質は、ヒト由来のKIAA0053というhypothetical proteinである。PHドメインとRhoGAPドメインからなるKIAA0053タンパクは、RacおよびCdc42に特異的なGAP活性を持つことが、最近実験から分かった。塩基性残基が集中する領域があり、それがPIPのアナログと結合するポケットであると推定される。	
109	nuclear receptor coactivator 5	anticodon binding domain	1V95	released	2004. 7. 20	ヒトが持つタンパク質で、全長479アミノ酸残基であり、nuclear receptor coactivator 5というタンパク質である。N末端から50残基目までにArgとAspが多く含む領域およびN末端からの242残基目から249残基目までにIQLLNLのようなL**LLのモチーフを持つ領域が存在し、nuclear receptor recognitionのためのbifunctional interacting determinantとして機能していることが報告されている。	
110	KIAA0561 protein	W2 domain	1V9V	released	2005. 3. 1	MAST205と相同性が高く (I. D. 69%) このタンパクもマイクロチューブの機能調節に関与していると考えられていた。近年MAST205の過剰発現によってLPS刺激に対するNF $\kappa$ Bの活性が阻害されることが報告された。また、解析対象ドメインを含む領域のないミュータントにおいてもNF $\kappa$ B活性は阻害されており、このドメインがLPS刺激におけるNF $\kappa$ Bシグナルに重要な役割を担っていると考えられる。構造は新規4ヘリックスバンドルであり、MASTファミリーで強く保存されたヒスチジン残基が溶媒に露出していた。このヒスチジンを含む保存されたHHQ配列近傍がこのドメインにおいて重要な役割を果たすと考えられる。	
111	unnamed protein product	thioredoxin like domain	1V9W	released	2004. 8. 3	解析対象ドメインはThioredoxin フォールドであるが、他のthioredoxinとは $\alpha$ 2のヘリックスアングルが異なり、また $\beta$ 2- $\alpha$ 2間のループが長いという特徴があった。本ドメインでは、他のthioredoxinで酸化還元作用を担うと思われるCys残基が、構造上の位置も含め保存されており、このタンパクも酸化還元能をもつと考えられる。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
112	poly(ADP-ribose) polymerase-1	first Zn-finger domain	1V9X	released	2005. 2. 22	損傷したDNAの修復に関わる酵素のひとつ。触媒ドメインの相同性から8種類のサブクラスが報告されており、本タンパク質はZinc-fingerを持つPARP-1である。PARP-1はDNAの損傷を感じしN末端の2つのZinc Finger部位によりDNAに結合する。また、C末端側の触媒ドメインが、核内タンパク質(ヒストン、いくつかの転写因子、DNA修復因子、NF- $\kappa$ B、AP-2、Oct-1、YY1、p53、Topoisomerase I、Lamin B、B23など)をポリADPリボシル化する。ADPリボシル基は数十個から200個程度にまで重合し、ポリADPリボシル化したタンパク質は電荷が変化して機能を大幅に抑制される。逆に、poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG)とADP-ribosyl protein lyaseの二つのタンパク質がポリADPリボシルの分解を行う。例えばヒストンがポリADPリボシル化した場合、DNAとヒストンが分離しクロマチンの再構成、DNA修復、転写の制限が起こる。このようなメカニズムにより、PARP-1はDNA修復、転写レベルでのさまざまなタンパク質の発現抑制、複製と分化の抑制(p53, YY1, AP-2などの機能制御)、テロメラーゼ活性の抑制、ネクロシスによる細胞死の促進などの機能を持つと報告されている。一本鎖または二本鎖DNAに結合し、寿命に関わるあらゆる病気(糖尿病、糖尿病性の血管内皮の機能障害、肺線維症、急性呼吸窮迫症候群(ARDS)、大腸炎、腸間膜の虚血再灌流障害、関節炎、骨格筋の再灌流障害、アセトアミノフェン毒素、葡萄膜炎、レチナルの虚血再灌流障害、内耳の阻血・再灌流障害、出血性ショック、敗血症性ショック、内毒素性ショック、多臓器不全)に関連する。構造は、N末から $\beta$ 2-loop(Zn-binding region)- $\beta$ 3- $\beta$ 4-(Zn-binding region)- $\alpha$ 1-loop- $\beta$ 1(parallel with $\beta$ 2)- $\alpha$ 2(parallel with $\alpha$ 1)であり、構造ホモロジー検索(Dali)の結果から新規構造と予測される。Znの結合方法は構造的に典型的なCCHCタイプである。ArgやLysがタンパク質表面で局在化して正の電荷が集中している部分がある。DNAの結合部位と予測される。	
113	PALS1	PDZ domain	1VA8	released	2005. 2. 22	Pals1は膜結合guanylate kinases(MAGUK)の新規サブファミリーの一つである。本タンパク質は2つのL27ドメインを含み、タンパク質のターゲティングと細胞極性に重要な役割を演じる。Pals1のPDZドメインは、細胞極性に重要な、CrumbsのC末端に結合する。本解析ドメインは6つの $\beta$ ストランドと2つの $\alpha$ ヘリックスからなる。通常PDZドメインは標的膜タンパク質のC末端を認識する。C末のペプチドは $\beta$ Bストランドと $\alpha$ Bヘリックスの間にあり、 $\beta$ Bと逆平行のgrooveに結合する。	
114	DSCAML1 protein	second fn3 (fibronectin type III) domain	1VA9	released	2005. 2. 22	ヒトDSCAM(Down syndrome cell adhesion Molecule)のパラログス遺伝子由来のタンパク質。遺伝子は染色体11q23に存在。DSCAMと同様に10個のIgドメイン、6個のFibronectin-IIIドメイン、および細胞質内ドメインよりなる。DSCAMと細胞外ドメイン領域で64%、細胞質内ドメインで45%の相同性を有す。マウスの脳では小脳プルキンエ細胞、歯状回の顆粒細胞、大脳皮質のニューロンおよび嗅神経球で顕著に発現している。DSCAMが胚での発現が顕著なのに反し、これは成体の脳で著しい。分化したPC12細胞では細胞表面に存在した。二価のカチオンを必要としないホモフィリックな細胞接着活性を有す。ニューラルネットワークの形成および維持にに關係していると推測される。6個のFibronectin-IIIドメインの内の第IIドメインである。染色体座より神経障害であるジルドラトウレット病およびヤコブソン症候群と関連するかもしれない。	
115	rhopilin-2	PDZ domain	1VAE	released	2004. 8. 14	全長タンパク質は、Rhopilin-2と高いホモロジーを持つ。Rhopilin-2は、Rho結合ドメインと Bro1ドメインと PDZドメインの3つのドメインからなる。Rhoは、アクチン細胞骨格の制御、Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> アンチポーターの活性化などの制御を行い、細胞の形態変化、運動、細胞分裂などにおいて機能する。Rhopilin-2は、このRhoに結合しアクチンストレスファイバーの形成を抑制する機能をもつことが報告されている。このことから、Rhopilin-2は細胞形成において重要な役割をもつことがわかる。Rhopilin-2のPDZドメインが欠損したものをPDZドメインをtriple point mutant (Rhopilin-2-R517A、L525A、G526A)したものは、アクチンストレスファイバーの形成を抑制する機能が失った。このことから、PDZドメインはこの抑制機能において重要なドメインであることが報告されている。また、Rhopilin-2は、 $\alpha$ -アクチン-4と結合するが、PDZドメインを triple point mutantすることで $\alpha$ -アクチン-4と結合することができなくなったことが報告されている。	
116	PDZ and LIM domain 2	PDZ domain	1VB7	released	2004. 8. 30	PDZ and LIM ドメイン2は PDZ-LIM タンパク質に分類され、PDZドメインとLIMドメインを1個ずつ有している。ヒトではmystiqueとも呼ばれる。PDZ-LIMタンパク質は、筋細胞等でアクチン細胞骨格の機能にかかわっていると考えられている。すなわち、N末端側のPDZドメインが細胞骨格と、C末端側のLIMドメインがレセプター等のキナーゼとそれぞれ結合し、両者の相互作用を仲介していると考えられる。解析対象となったドメインは、アクチン細胞骨格成分と相互作用すると推定される。PDZ-LIM タンパク質のPDZドメインはさきわめて相同性が高く、ほとんど同じ基質特異性を持つと考えられる。他のPDZ-LIM 蛋白質では、PDZドメインに対して $\beta$ トロポミオンや $\alpha$ アクチニン2が結合相手として知られている。	
117	Vtila (Vesicle transport through interaction with t-SNAREs homolog 1A)	DUF (domain of unknown function)	1VCS	released	2005. 5. 3	Vtila (Vesicle transport through interaction with t-SNAREs homolog 1A)は、小胞輸送において膜融合に関与するSNAREタンパク質の1つとして知られているVtil1のヒトホモログである。VtilaはN末端に3本のヘリックスを持つドメインと、C末端に膜貫通領域およびそれに隣接するコイルドコイル様の構造を形成しうるSNAREモチーフを持っている。膜融合は、小胞側に保持されたv-SNAREタンパク質を持つ1本のSNAREモチーフと、ターゲット膜側に保持された2種または3種のt-SNAREタンパク質からなる複合体由来の3本のSNAREモチーフを、同じ方向にコイルドコイル様構造を形成することによって2つの膜が互いに引き寄せられ、膜の融合が起こると考えられている。また、SNAREタンパク質の組合せによって高い特異性を備えていることも明らかとなっている。酵母由来のVti1pはv-SNAREタンパク質としてシス-ゴルジネットワークやゴルジ体→液胞への膜融合への関与およびt-SNAREタンパク質として、液胞→液胞やゴルジ体→形質膜の系の膜融合で機能していることが示唆されており、また、ヒトホモログとの機能の置き換えが可能であるという報告もされている。Vtilaと細胞内での局在が若干異なるホモログVtilbを欠損したマウスでは、約20%が野生型よりも小柄なもののほとんど違いが見られず、Vtilbの欠失が他のSNAREタンパク質によって補填されうる可能性が示唆されている。3本の長い $\alpha$ -helixがup and down bundleし、左巻きでtwistした構造。N末端から2番目のヘリックス(Hb)と3番目ヘリックス(Hc)をつなぐループ領域で収斂があまり良くないが、この領域は1番目のヘリックス(Ha)が短いために3本のヘリックスによる堅い構造をとれず、若干運動性が高くなっていることに起因していると予想される。また、タンパク質表面の静電ポテンシャルを見ると、Hbの下部(上部)を中心にネガティブチャージが、Hcの上部(下部)を中心にポジティブチャージがクラスター化している。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
118	Capsid stabilizing protein GPD		1VD0	released	2005.3.29	gpDタンパク質は、ウイルスのキャプシドを安定化させる働きを持つタンパク質である。gpDなしでは、ウイルスは自己DNAをキャプシドに取り込む事が出来ず、増殖する事が出来ない。キャプシドは、ウイルスがDNAを取り込む段階でキャプシドタンパク質に結合して構造を安定化させている事が分かっている。キャプシド結合時、また結晶化された状態ではホモ三量体を形成しているが、溶液中では単量体で存在する。NMRと構造計算アルゴリズムを用いた構造解析で、gpD単量体は7本のβストランドと1本の短いヘリックスで構成されている事が判明した。このタンパク質のN末端にある18残基から成る配列は種により配列保存度の低い部分であるが、この部分がキャプシド結合に必須な配列であることが示唆された。今回得た立体構造を基にgpDの働きを阻害する化合物が得られれば、HIVを含むウイルス感染症に対する治療薬の開発に繋がる可能性がある。	
119	RSGI RUH-013	UBA (Ubiquitin associated) domain	1VDL	released	2004.9.23	26Sプロテアソームとの結合によるユビキチン依存のタンパク質分解経路で、ユビキチンC末チオエステルをユビキチンとチオールに分解する。脳、骨格筋、心臓等広い組織で発現している。ペプチダーゼファミリーC19に分類される。解析対象となったUBAドメイン(ubiquitin associated domain)はユビキチン/タンパク質分解経路、DNA切断修復およびプロテインカイネースを介した細胞伝達で働くタンパク質に見出される特異な配列モチーフで、その構造は3本のヘリックスからなるかたまりである。EF-TSタンパク質のN末に見出されるUBAドメインはEF-TSタンパク質とEF-TUタンパク質の相互作用に関わることが知られている。	
120	hypothetical protein	ENTH-VHS domain	1VDY	released	2005.5.3	ENTHとVHSはエンドサイトーシスにおいてクラスリン被覆小胞形成の調節因子によく存在するドメインである。この研究結果から、両ドメインがクラスリン被覆小胞形成の最初の段階に関わっていることがわかる。両ドメインは植物・動物(ヒトをも含む)由来の多数のタンパク質に共通に見られる。クラスリン仲介によるエンドサイトーシスはホルモン、タンパク質、栄養物などを細胞内に取り入れるという細胞の重要なプロセスの一つである。このプロセスにより、ホルモンによる情報を細胞内に伝達するのはもとより、細胞膜表面におけるレセプターの発現量を制御する事で特定のホルモンに対する細胞の感度をも調節している。	
121	Rhodanese	hypothetical rhodanese domain At4g01050	1VEE	released	2005.1.25	全長121のアミノ酸残基ドメインにあるRhodaneseフォールドは、無機物イオン輸送と代謝作用に関わる構造のことであり、他に細胞伝達や分化といった細胞の過程やシグナル伝達にも関わる。	
122	splicing variant of NUB1 (NEDD8 ultimate buster-1)	UBA (Ubiquitin associated) domain	1VEG	released	2004.9.30	全長タンパク質は、NUB1 (NEDD8 ultimate buster-1 [Mus musculus]) タンパク質のスプライシングバリエーション(C末端フラグメント)であり、3回のUBA リビート領域やNEDD8結合部位などを含んでいないが、UBLを含むN末端領域(236残基)を欠いている。NEDD8はユビキチン様タンパク質として知られ、cullinファミリーをターゲットとして結合することで生体内の生物学的な事象をコントロールしているが、このNEDD8とその結合タンパク質の下方制御を行うことがNUB1の主な役割であると言われている。従って、UBLドメインを欠くこの全長タンパク質はNEDD8と結合はできるが、プロテオソームへリクルートすることができないと予想される。この事は、全長タンパク質がNUB1によるNEDD8のプロテオソームへのリクルートを競合的に阻害していることを示唆しており、NEDD8と結合したターゲットタンパク質の分解を遅らせる役割を担っている可能性がある。本ドメインは、構造解析の結果からUBA (Ubiquitin Associated domain) フォールドをとっていることが明らかになった。UBAはユビキチン(ユビキチン様ドメインを含む)と相互作用することが知られているが、全長タンパク質のヒトホモログであるNUB1において、本解析ドメインに相当する三番目のUBAドメインはNEDD8と結合しないと報告されている。従って、本解析ドメインの相互作用ターゲットが何かは予測できないが、NUB1のN末端に存在するUBLと分子内相互作用をしている可能性がある。この様な相互作用の可能性は、類似のタンパク質Rad23においてByongらにより報告されている。NEDD8修飾システムがマウスにおいて細胞周期の進行や発生時の形態形成、ショウジョウバエにおいては目の発達に必須であることが示されていることから、この系の果報制御因子であるNUB1は生体内で重要な役割を担っているといえる。なお、骨肉腫細胞におけるNUB1の過剰発現は、絶大な成長阻害効果を示したという報告がKamitaniらによりされている。	
123	HIRIP5 protein	NifU-like domain	1VEH	released	2004.9.30	NifUproteinは窒素固定の際の iron-sulfur(Fe-S) metalloclusters形成に関わるタンパク質であり、同一のFe-S clusterを二つ含むホモダイマーを形成する。これらの複合体形成には保存されているCys残基が関わっている(本NifU-likeにおいても保存)。ヒトホモログであるNfuタンパク質において、Fe-Sとアセチルすることが報告済みである。ヒトNfuと本構造解析サンプルであるNifU-likeとの配列相同性は83%である。配列内部に-C-X-X-C-モチーフを有することから何らかの金属と結合することが考えられる。ホモログなどの情報から、Fe-Sと結合する可能性が考えられる。(ヒトで既に報告済み) DiGeorge syndrome (胎生期の分化障害に起因する先天性免疫不全病)患者から同定された25以上の遺伝子の一つにHIRA遺伝子の産物、HIRA proteinを用いたtwo hybridの結果、同定されたHIRIP5 proteinがある。このHIRIP5 proteinのマウスホモログ配列とNifU-likeの配列は89.7%一致し、構造解析ドメインは完全に一致している。HIRIP5タンパク質が、HIRAタンパク質と相互作用することから、本タンパク質はHIRAタンパク質と相互作用する可能性が考えられ、NifU-likeは、この遺伝性疾患と関わっている可能性がある。Lafora disease(ラフォーラ型進行性ミオクロームスデんかん)は、EPM2A gene突然変異によって起こり、その遺伝子は機能未知laforinタンパク質をコードし、このlaforinはHIRIP5と相互作用する。NifU-likeはこのlaforinと相互作用することが考えられ、本疾患とも関わっている可能性がある。	
124	RIKEN cDNA 4931431F19	UBA (Ubiquitin associated) domain	1VEJ	released	2005.5.31	本UBAドメインの構造はN字型の3つのαヘリックスから構成されている。ユビキチンと相互作用すると考えられている疎水性表面だけでなく、酸性を帯びた面が見られる。全長タンパク質の配列はUbiquilinと比較的高い配列保存性を示している(Expect =1e-43 Identities = 172/581 (29%), Positives = 258/581 (43%), Gaps = 76/581 (13%)。UbiquilinはN-末端のUbl (Ubiquitin-Like)ドメイン、C-末端のUBA (Ubiquitin-Associated)ドメインから構成されていることが明らかとなっており、Ublドメインが19Sプロテアソームと、UBAドメインがポリユビキチンと相互作用することでポリユビキチン化タンパク質をプロテアソームへとリクルートするシャトル因子として働くと考えられている。本解析ドメインの全長タンパク質は、N-末端及びC-末端でUbiquilinと特に高い相同性を有しており、poly-Ubiquitin化タンパク質のシャトル因子として働くことが強く示唆される。今回行ったUBAドメインの構造解析は、UBAドメインの構造情報を基にしたpoly-Ubiquitinの認識機構及び本解析ドメインの全長タンパク質の機能解明に重要であると考えている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
125	RSGL RUH-011	UBA (Ubiquitin associated) domain	1VEK	released	2004. 9. 30	ユビキチン/26Sプロテアソーム経路によるタンパク質分解において、マルチユビキチンの結合した蛋白質からマルチユビキチン鎖の切り出し、及びユビキチンモノマーへ分解に関与し、ユビキチンのリサイクルに寄与していると考えられている。その構造は、N字型の3つの $\alpha$ -ヘリックスから構成されている。ユビキチンと相互作用すると考えられている疎水性表面が見られる。	
126	F-spondin	TSR domain 4	1VEX	released	2005. 4. 19	F-spondinは神経系の発生に関わるタンパク質である。	
127	Vanabin		1VFI	released	2005. 3. 22	ある種のホヤは高濃度かつ高選択的にバナジウムを濃縮している。その濃度は海水のバナジウム濃度 (35 nM) の1,000万 (10 <sup>7</sup> ) 倍に相当する350mM濃度に達し、濃縮されたバナジウムはバナジウム濃縮細胞 (バナドサイト) の液胞内の硫酸酸性下 (pH 1.9, 500 mM H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> ) で、生体には稀な三価に還元されて蓄えられる。他の生命体に例を見ないこの特異な生理現象は、金属イオンの選択的濃縮機構を解明する上で格好のモデルであり、化学と生物学にまたがる学際的問題として強い関心を引きつけてきた。バナドサイトから抽出したバナジウム結合タンパク質 (vanabin) のNMRによる三次元構造の解明を行った。 vanabin-2は、1分子あたり約20原子のバナジウム (IV) と結合する。その結合定数は10 <sup>10</sup> M程度である。vanabinは、システイン残基を約20%含み、(C)-x (2-4)-(C) という特徴的なモチーフの繰り返し配列を示す。このタンパク質中のCys残基は全てS-S結合を形成している。Cys残基のSS結合の帰属は、次のようである。CYS9-CYS63, CYS13-CYS59, CYS17-CYS56, CYS23-CYS49, CYS27-CYS44, CYS31-CYS40, CYS67-CYS94, CYS72-CYS89, CYS76-CYS86 三次元構造は、4本のalpha-helixからなり、U字型のshapeをしている。U字型の大きな溝に塩基性残基が局在しており、purtabation実験から、その部分が4価のバナジウムイオン (バナジルカチオン) と相互作用することが分かった。	
128	hypothetical protein	UBA (Ubiquitin associated) domain	1VG5	released	2004. 10. 23	全長タンパク質は、ユビキチン・プロテアソームタンパク質分解に関与。解析対象ドメインは、ユビキチン運搬タンパク質 (E2)、ユビキチン連結酵素 (E3)、ユビキチンC末加水分解酵素 (UBPs) がユビキチンに結合する部位である。癌抑制遺伝子p53やNF- $\kappa$ Bの分解に関与している。細胞周期関連因子、シグナル伝達因子、転写因子の制御に関わる。家族性パーキンソン病にも関与するため、この疾患の治療法の確立に貢献するかもしれない。	
129	splicing factor AAL91182	ubiquitin-like domain	1WE6	released	2004. 11. 24	スプライシングを行うスプライソソームの構成成分は、おもにU1 snRNP, U2 snRNP, U4, 5, 6 snRNPという蛋白質RNA複合体で構成されている。この中で、U2 snRNPの蛋白質成分である、SF3a120K蛋白質は、その中にユビキチン様構造をもっている。これは、スプライソームのrecyclingあるいは、他の構成成分と相互作用を行っている可能性が示唆されており、その構造を理解することは、スプライシングにかかわる病態の解明に役立つと考えられる。	
130	SF3a120	ubiquitin-like domain	1WE7	released	2004. 11. 24	スプライシングを行うスプライソソームの構成成分は、おもにU1 snRNP, U2 snRNP, U4, 5, 6 snRNPというタンパク質RNA複合体で構成されている。この中で、U2 snRNPの蛋白質成分である、SF3a120Kタンパク質は、その中にユビキチン様構造をもっている。これは、スプライソームのrecyclingあるいは、他の構成成分と相互作用を行っている可能性が示唆されており、その構造を理解することは、スプライシングにかかわる病態の解明に役立つと考えられる。	
131	BAB28342	KH domain	1WE8	released	2004. 11. 24	全長タンパク質RNA結合に関与すると考えられるtudorドメインとKHドメインをもつ。植物では、相同性のある蛋白質が、腫瘍の形成や減数分裂に関与することが知られており、動物細胞での相同蛋白質でも、生殖細胞などの成熟に関与すると考えられる。通常このKHドメインをもつ蛋白質は、複数のKHドメインをもつが、この蛋白質では、単独のKHドメインをもつのみであり、他のKHドメインをもつ蛋白質との比較から、特異的なRNA認識機構の推定が可能になると期待される。	
132	nucleic acid binding protein-like NP_197993	PHD (plant homeodomain) finger	1WE9	released	2004. 11. 24	核酸結合蛋白質と考えられている。このPHDドメインは、多くの生物種を超えて保存されており、核酸結合であるか、蛋白質間相互作用に関連するのかは、いまだに明らかにされていない。PHDドメインを持つ蛋白質は、転写因子などと相互作用することが考えられるが、この相互作用機序を明らかにすることは、重要なことである。	
133	PHD finger family protein	PHD (plant homeodomain) finger	1WEE	released	2004. 11. 24	PHDドメインは、多くの蛋白質でみられ、核酸との相互作用や、蛋白質間相互作用に働いている。PHDドメインの認識様式を明らかにするために、いくつかのPHDドメインについて比較を行い、その相互作用機序を明らかにすることを目的とする。	
134	NP_006038	RNA-binding domain	1WEL	released	2005. 8. 23	全長タンパク質は、精子細胞の成熟に関係していると考えられ、解析対象ドメインの機能はRNAへの結合である。構造は、 $\beta$ 2上に従って見られない配列が存在する。	
135	Death Inducer-Obliterator1 (DI01)	PHD (plant homeodomain) finger	1WEM	released	2004. 11. 25	アポトーシスは、不必要な細胞を生体内から除くメカニズムとして広く知られており、分化発生などでも重要な役割をはたしている。このタンパク質は、細胞質内に存在しているが、アポトーシスの細胞外シグナルにより、核に移行しアポトーシスのシグナルを核に伝達する役割を果たしていると考えられる。アポトーシスは、悪化した細胞に対して引きこすことができ、その増殖を制限することが、期待でき、このタンパク質の作用機序を解明することは、非常に重要である。今回構造解析をおこなった、PHD 4ドメインは、DNAとの相互作用あるいは蛋白質相互作用に重要な役割を担っていると考えられる。	
136	Inhibitor of growth 1 like protein.	PHD (plant homeodomain) finger	1WEN	released	2004. 11. 25	癌抑制遺伝子として知られるING-1蛋白質と相同性を持つ蛋白質のカルボキシル末端に存在するPHDドメインである。この蛋白質は、p53の制御をコントロールすることにより、活性調整を行うと考えられている。	
137	irregular xylem3 (irx3)	RING-finger ; PHD domain	1WEO	released	2004. 11. 25	シロイヌナズナにおいて、irregular xylem3 (irx3) の変異により、二次細胞壁でのセルロース堆積が著しく欠損し、木部細胞の崩壊が生じることが報告されている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
138	periplasmic sugar-binding protein	PHD (plant homeodomain) finger	1WEP	released	2004. 11. 25	全長タンパク質は周辺質糖結合タンパク質 (periplasmic sugar-binding protein) であり、炭水化物輸送や代謝に関わる。PHDドメインは、多くの蛋白質でみられ、核酸との相互作用や、蛋白質間相互作用に働いている。	
139	PHD finger protein 7	PHD (plant homeodomain) finger	1WEQ	released	2004. 11. 25	PHDドメインは、多くの蛋白質でみられ、核酸との相互作用や、蛋白質間相互作用に働いている。PHDドメインの認識様式を明らかにするために、いくつかのPHDドメインについて比較を行い、その相互作用機序を明らかにすることを目的としている。	
140	inhibitor of growth 1-like (ING1L)	PHD (plant homeodomain) finger	1WES	released	2004. 11. 25	癌抑制遺伝子として、知られるING-1蛋白質と相同性を持つ蛋白質のカルボキシル末端に存在するPHDドメインである。この蛋白質は、p53の制御をコントロールすることにより、活性調整を行うと考えられている。	
141	ING1-like protein BAC25009	PHD (plant homeodomain) finger	1WEU	released	2004. 11. 25	転写制御因子として働き、NF- $\kappa$ Bと相互作用し、その活性を抑えると考えられている。また、グリオーマ(神経細胞の癌)で強制発現させると、癌の抑制を起こす。解析ドメインの機能は蛋白質相互作用かDNA結合である。Znをもつ典型的なPHD-finger構造をもつ。とくに、神経細胞の癌(グリオーマ)では、癌抑制機能をもつと考えられる。	
142	NP_082203	PHD (plant homeodomain) finger	1WEV	released	2004. 11. 25	ホメオチック遺伝子の抑制因子であるPHF 1 遺伝子産物でみられるPHD fingerに相同性をもつ。この遺伝子産物のホモログは、アルツハイマー病に関連するtau蛋白質とも相互作用すると考えられ、今回構造解析したPHD fingerは、蛋白質相互作用に関連すると思われる、この蛋白質に立体構造解析が、この相互作用の解明に役立つ可能性をもつ。	
143	DNA-binding family protein AAM98074	PHD (plant homeodomain) finger	1WEW	released	2004. 11. 25	動物の肝臓がん細胞の抗原蛋白質58との相同性がみられる。立体構造解析のデータをもとに、抗原性についての考察が可能になり、よりよい抗体の作成などのむすびつくり可能性を持つ。	
144	BAB28521	RRM (RNA recognition motif)	1WEX	released	2004. 11. 25	このタンパク質はhnRNP(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein)を構成する因子の一つであり、複合体はRNAのプロセッシングに関与している。またこのタンパク質はLタンパク質であるため、抗体結合部位でなくkL 鎖と相互作用して各種免疫グロブリンと結合する。核に局在している。	
145	calcipressin 1	RRM (RNA recognition motif)	1WEY	released	2004. 11. 25	DSCR1タンパク質(Down syndrome critical region protein 1)は、ダウン症の胎児の脳で過剰発現しており、カルシニューリン Aと物理的に相互作用する。カルシニューリン Aの触媒作用ドメインに結合することによってカルシニューリン依存の転写反応を抑制する。中枢神経系の発達にも関与する。	
146	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H'	first RRM (RNA recognition motif)	1WEZ	released	2004. 11. 25	hnRNP H1蛋白質に現れるRNA結合ドメインである。mRNAの細胞内での保存に関与しており、mRNAの存在状態に大きく関与している。	
147	TAR DNA-binding protein-43	RRM (RNA recognition motif)	1WF0	released	2004. 11. 25	HIVウイルスの細胞内での増幅に関与すると考えられているTAR DNA結合タンパク質中に現れるRNA結合ドメインと相同性をもつ。この因子は、細胞中では、スプライシングの制御に関与すると考えられるが、HIVの成熟に必要な細胞内因子に可能性も指摘される。構造から、hnRNP A1 に相同性があると考えられる。HIVに成熟過程を制御する場合、その阻害剤の開発が、HIVの成熟を阻害する可能性をもつ。	
148	RNA-binding protein NP_057951	RRM (RNA recognition motif)	1WF1	released	2004. 11. 25	mRNAの動態に影響をもつhnRNPの構成成分のひとつで、新規な構成成分であると考えられている。	
149	HNRPC protein	RRM (RNA recognition motif)	1WF2	released	2004. 11. 25	hnRNP H1蛋白質に現れるRNA結合ドメインである。mRNAの細胞内での保存に関与しており、mRNAの存在状態に大きく関与している。	
150	Sidekick 2	fn3(fibronectin type III) domain	1WF5	released	2005. 6. 7	フィブロネクチンは複数のドメインで構成される糖タンパク質であるが、その中でもフィブロネクチンタイプIIIドメイン(FnIII)は基本的なタンパク質で最も一般的なフォールドのうちの1つである。フィブロネクチンの中で最初に見出され、その後すべての動物性タンパク質の~2%で見つかっている。これらのうちのほとんどは細胞外のタンパク質であるが、細胞内タンパク質である膜受容タンパク質でも見つかっている。すべてのFnIIIにおいて、80~100アミノ酸残基から成る3つのストランドと4つのストランドの $\beta$ シート二枚を重ね合わせた $\beta$ サンドイッチ構造をもっている。fn3ドメインが繰り返されるサイドキックタンパク質は、網膜内薄膜に特別な接続性を促すシナプス接着分子であり、内部の網状になったsublaminaeを共有化するために働く前シナプスと後シナプス細胞から発現する。構造は、6つのC-2タイプ免疫グロブリンドメインを持ち、13のFn3ドメインが繰り返されるが、本解析ドメインは、それらの中でも最初に並ぶフィブロネクチンタイプIIIである。	
151	topoisomerase II-binding protein 1 (TopBP1); similar to Rad4/Cut5	BRCT (BRCA1 Carboxyl Terminus) domain	1WF6	released	2004. 11. 26	全長タンパク質は、細胞周期のC2-Mチェックポイントを制御している。TopBP1には8個のBRCT (BRCA1 Carboxyl Terminus) ドメインが含まれており、yeastのチェックポイントRadタンパク質のCut5と相同性がある。解析対象となったBRCTドメインはDNA修復酵素や細胞周期の調節因子に多く存在し、タンパク間相互作用に重要な役割を果たしている。BRCTドメイン同士でヘテロダイマーを作ることが報告されている。本ドメインは典型的なBRCTドメインで、3本のヘリックスと4本の平行 $\beta$ ストランドからなる。BRCTドメインのヘテロダイマーを作る部分にはN末端側のリンカー部分と思われるペプチドが結合している。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
152	Enigma homologue protein (ENH)	PDZ domain	1WF7	released	2004.11.26	Enigmaホモログタンパク質 (ENH)は、心臓と骨格筋に特異的に存在するタンパク質で、N末端にPDZドメイン1つとC末端にLIMドメインを含む。ENHはprotein kinase Cβ (PKCβ) およびN-type Ca <sup>2+</sup> チャンネルと特異的に相互作用することによって、特異的PKCと基質を標的としてシグナル伝達機能を持つ複合体を形成し、これが特異的かつ効率的なPKCシグナル伝達の分子メカニズムとなる。解析対象ドメインである本タンパク質のPDZドメインは、アクチンおよびαアクチン2と相互作用し、細胞骨格タンパク質と結合する。	
153	Spinophilin/NeurabinII protein	PDZ domain	1WF8	released	2005.6.7	Spinophilin/Neurabin-IIは、protein phosphatase-1 catalytic subunit (PP1)の調節サブユニットであり、樹状突起棘、特に中枢神経系の興奮インプットを受ける樹状突起の突起部分に集積している。本タンパク質はC末端にF-アクチン結合ドメインを1つ、中央部にPDZドメインを1つ、C末端にコイルドコイル構造を形成すると予測されるドメインを持つ。解析対象ドメインは、PDZドメインで膜タンパク質と相互作用する。	
154	NPL4 (nuclear protein localization 4) homolog	ubiquitin-like domain	1WF9	released	2005.6.7	全長はN端側に解析対象となった未知ドメイン、C端側にNPL4(nuclear protein localization 4)ドメインを持つ。本蛋白質の機能解析の報告はないが、NPL4ドメインがユビキチン化蛋白質の小胞体関連蛋白質分解系と深く関係していることが知られていることから、同様の機能を持つと推察される。解析対象となったドメインは94アミノ酸から成る未知ドメインである。構造解析の結果、基本的にはユビキチン等に見られるβ-grasp様構造を持つ一方、第3、第4βストランドが著しく短小化(または消失)し、そこに2本のαヘリックスが付加した新規構造を持つことが明らかになった。	
155	hypothetical protein	MIT domain	1WFD	released	2004.11.26	このタンパク質の全長は約250残基で構成されているが、N末端のMIT (microtubule-interacting and trafficking molecules)ドメイン以外、ドメインは認識されていない。これまで、MITドメインの立体構造の報告はなく、本構造解析によりはじめてMITドメインの構造 (3本の反平行ヘリックスバンドル構造) が明らかとなった。	
156	RIKEN cDNA 2310008M20	zf-AN1 domain	1WFE	released	2004.11.26	全長タンパク質は、269残基でN末端にこのAN1が2つタンデムに配置されている。本研究で解いた構造は、このタンパクの2番目のAN1である。一部最初のAN1の配列も組み込まれているが、構造はとってない。Zinc結合の様式は、CCCHとCCHCで結合している。Zinc周囲の構造は、FYVEドメインのZinc結合部位とよく似ている。	
157	RIKEN cDNA 2810002D23	zf-AN1 domain	1WFF	released	2004.11.26	全長のタンパク質は、N末端にユビキチンドメインを持っており、C末端にはこのZn-AN1ドメインが存在している。アフリカツメガエルのAN1タンパク質のマウスのホモログである。このタンパク質のzf-AN1ドメインは、タンパク質相互作用するタイプのzf-AN1ドメインと高い配列相同性があるのでこのzf-AN1ドメインもその機能を有する可能性がたかい。	
158	RIM2B	PDZ domain	1WFG	released	2004.11.24	カルシウム濃度上昇にすばやく反応するために、シナプス小胞をpresynaptic membrane上に保持する機能がある。RIM2は、シナプス小胞上にありGTP結合タンパク質のRab3Aに結合するZn-finger部位、膜タンパク質のC末端側に結合し膜外からのシグナル伝達に関わるPDZドメイン、さらにリン脂質およびタンパク結合に関わるC2ドメイン2つから構成される。本タンパク質は、記憶や学習に関連したタンパク質で、解析対象ドメインは、典型的なPDZドメインである。しかし、2本目と3本目(典型的なPDZドメインでは1本目と2本目)のβストランド間のループが長くペプチド結合領域にはまり込んでいる。N末側に1本多くβストランドがある。機能としては、他のPDZドメイン同様に膜タンパク質のC末端の4残基を認識して結合し、膜外から膜内へのシグナル伝達に関与していると推察される。	
159	hypothetical protein At2g36320*	zf-AN1 domain	1WFH	released	2004.11.26	C末端にこのAn1ドメインのみが存在する。zfp216のzf-An1はタンパク質と相互作用することが示唆されていることより、An1の機能は、タンパク質相互作用を担っている可能性が非常に高い。本研究によりzf-An1の構造がはじめて明らかになった。立体構造の特徴は、2つの亜鉛イオンと結合しておりCys-Cys-Cys-HisとCys-Cys-His-Cysで結合している。特にPHE、ARG、TYRがタンパク質表面上でスタックした構造が存在しており、その部位がタンパク質相互作用に関与している可能性が高いことがわかった。またこのFRYサンドイッチ構造は、動植物間で保存されている部位である。	
160	nuclear distribution gene C homorog (NudC)*	Nuclear_move domain	1WFI	released	2004.11.26	NudCは糸状菌Aspergillus nidulansで体細胞分裂段階でモータータンパク質であるダイニンと相互作用することで核の移動に関わるタンパク質として発見された。一方で、mammalian NudCはLis1と相互作用することで、大脳新皮質の発生段階で神経移動タンパク質として重要な役割を果たしている。また、正常または悪性の造血性前駆細胞において多く発現しており、これらの細胞増殖に関わっている。NudCは330残基程度であり、この118残基のコンストラクトはNudCのうち唯一ドメインとして認識されている部分である。Nuclear_move domainとしては初めて解明した構造であるが、heat shock protein 90に対するco-chaperoneであるp23と構造の類似性があることが解析の結果わかった。7本のβストランドからなるサンドイッチ構造である。	
161	putative elicitor-responsive protein	C2 domain	1WFJ	released	2004.11.26	病原菌感染などのストレスに対する植物の持つ病態抵抗やその育種に重要なエリクター応答で発現する遺伝子。タンパク質はC2ドメインひとつから成るため、リン脂質膜上に局在して、タンパク間相互作用をしていると思われる。解析対象ドメインは、ホスホリパーゼCなどに見られるType-II型のC2ドメインである。カルシウム結合に必要なAspが5つ保存されている。リン脂質結合にひつようなArgとLysが存在するため、カルシウム依存型リン脂質結合が出来る可能性がある。Synaptotagmin IのC2Aドメインではphosphatidylinositolが結合できる。典型的なType-II型C2ドメインで8本のβストランドがサンドイッチ構造を構成している。カルシウム結合および、カルシウム依存型リン脂質結合に必要な残基がすべて存在している。基質結合ポケットがあり、他のC2ドメイン同様にタンパク結合に使われるとされているLysやArgが存在している。	
162	unnamed protein	FYVE domain	1WFK	released	2004.11.26	シークエンスアライメント、および構造解析の結果は共にFYVEドメインだった。FYVEドメインはphosphatidylinositol 3-phosphateと結合することによって、膜輸送とシグナル伝達を制御している。構造的には、2つのZnが4つずつのシステインで結合しており、すでに報告されているFYVEドメインに類似の構造をとっていた。ただし、FYVEドメインに広く保存されているRRHHCRモチーフがKEYGCKになっている。リン脂質結合に必要な2残基目のRがEに置換されているためリン脂質の結合は不可能と思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
163	zinc finger protein 216	zf-An1 domain	1WFL	released	2004. 11. 26	zinc finger protein 216は、N末端にZf-A20、C末端にZf-An1を持つ200アミノ酸からなるタンパク質である。最近、このタンパク質が腫瘍壊死因子であるRIP、TRAF6と結合しアポトーシスの制御をしていることが報告されている。本研究で解いたzf-An1ドメインは、このTRAF6と直接結合することが知られている。したがって、この結合様式が理解できればガン細胞増殖の抑制等が期待できる。	
164	synaptotagmin XIII	first C2 domain	1WFM	released	2004. 11. 26	synaptotagmin IIはpresynaptic membraneでカルシウムイオンの上昇によって、カルシウムとイノシトールリン脂質が結合する。さらに、SNAREと相互作用することで、神経伝達物質の放出に直接的に関わっている。解析したsynaptotagmin XIIIも同様の機能を果たしていると推察できる。また、他のsynaptotagminのC2ドメインと同様にリン脂質結合およびタンパク結合の機能を果たし、疾患との関連情報から、記憶や学習に関係していると思われる。	
165	sidekick-2	fourth fn3 (fibronectin type III) domain	1WFN	released	2005. 6. 7	sidekickは6個のIgドメインと13個のfn3ドメインを持つ膜貫通蛋白質である。さらにC末側にSXVという配列のモチーフがあり、他の蛋白質のPDZドメインに結合する。また、sidekickはsidekick同士で細胞接着の機能を果たす。sidekickは網膜内においてシナプス前部と後部をつなぐ神経細胞接着の働きをしている。構造解析したドメインは13個のfn3ドメインのうちの4番目のものである。	
166	sidekick-2	eighth fn3 (fibronectin type III) domain	1WFO	released	2005. 6. 7	sidekickは6個のIgドメインと13個のfn3ドメインを持つ膜貫通蛋白質である。さらにC末側にSXVという配列のモチーフがあり、他の蛋白質のPDZドメインに結合する。また、sidekickはsidekick同士で細胞接着の機能を果たす。sidekickは網膜内においてシナプス前部と後部をつなぐ神経細胞接着の働きをしている。構造解析したドメインは13個のfn3ドメインのうちの8番目のものであり、fn3ドメインがDNA、ヘパリン、細胞表面への結合部位を含むことから、当ドメインが神経細胞接着に直接関与している可能性がある。	
167	F5011.17	zf-An1 domain	1WFP	released	2004. 11. 26	N末端にA20ドメインとC末端にこの解析したドメインが存在する。このタンパク質は、マウス、ヒトのzfp216とホモログのタンパク質である。zfp216のzf-An1は、タンパク質相互作用に関与していることより、本研究で解析したzf-An1もタンパク質相互作用に関与している可能性が高い。本研究によりzf-An1の構造がはじめて明らかになった。立体構造の特徴は、2つの亜鉛イオンと結合しておりCys-Cys-Cys-HisとCys-Cys-His-Cysで結合している。特にPHE、ARG、TYRがタンパク質表面上でスタックした構造が存在しており、その部位がタンパク質相互作用に関与している可能性が高いことがわかった。またこのFRYサンドイッチ構造は、動植物間で保存されている部位である。	
168	cold-shock protein	'Cold-shock' DNA-binding domain	1WFQ	released	2004. 11. 26	本タンパク質は一本鎖の核酸に高いアフィニティーを持つ。解析対象となったcold-shock proteins / domains (CSD) は、おそらくRNA chaperoningを介した翻訳調節に関与していると思われる。低体温では、ほとんどのタンパク質のinduction rateが著しく低下するが、本タンパク質の合成速度は上昇する。構造的には、5つのβストランドからなり、バレルを形成している。	
169	conserved hypothetical protein	SCP2 like domain	1WFR	released	2004. 11. 26	TT1886はステロール輸送タンパク質(SCP-2)であると予測されている。SCP-2はさまざまな脂質に対しブロードな選択性を持つことが知られている。これまでに脂質との複合体も含め、いくつかの類似構造が解かれている。	
170	glia maturation factor, gamma	cofilin-ADF (actin-depolymerization factor)	1WFS	released	2004. 11. 26	アクチン結合タンパク質であるコフィリンは、細胞質分裂、飲食作用、全胚組織の発達、虚血、酸化的あるいは浸透圧ストレス・組織再生などの病的状況で、必須の役割を演じている。グリア成熟因子は脊椎動物の脳内で成長や分化因子として機能するが、これはコフィリンの機能とオーバーラップする。変異型(発癌性)の機能不良により、脳機能に異常がきたすと考えられている。	
171	1700129L13Rik protein (similar to HCF-2 (host cell factor 2) )	fn3 (fibronectin type III) domain	1WFT	released	2004. 11. 26	性感染症を引き起こすHSVはVP16がHCF-1、Oct-1と結合してIEプロモーターの上流に結合することで転写を開始する。HCF-2の役割はまだわかっていないが、これもVP16と結合できる。ドメインの機能としては、N-末端のSAS-N領域と結合しself-associationを起こしていると考えられ、構造解析の結果β5とβ6間に特徴的なαヘリックスが存在する事がわかった。	
172	unnamed protein	fn3 (fibronectin type III) domain	1WFU	released	2004. 11. 27	全長タンパク質の機能は未知であるが、解析ドメインは配列相同性からFibronectin type III ドメインと推定される。Fibronectinは複数ドメインより成る糖タンパク質で、ヘパリン、コラーゲン、DNA、アクチン、フィブリン、フィブロネクチン受容体等、多種多様な物質と結合する。これは、Fibronectinが数々の重要な生体機能(傷の治癒、血液凝固、細胞接着、細胞分化等)に関与していることを意味する。Fibronectin type III ドメインは約100アミノ酸から成るドメインで、DNA、ヘパリン、細胞表面への結合部位を持つ。	
173	human membrane associated guanylate kinase inverted-2 (Kiaa0705 protein)	PDZ domain	1WFW	released	2004. 11. 27	神経細胞の成長などに関与するactivinに結合し、activin-mediated シグナルを制御していると考えられる。この遺伝子が欠損すると、下垂体の性腺刺激ホルモン細胞でそのネットワークが阻害されるという報告がある。今回解析されたドメイン部分がこのネットワーク中の他のタンパクと結合することで制御しているかもしれない。	
174	Kalirin-9A protein	SH3 domain	1WFW	released	2004. 11. 27	ラットKalirin-9aのマウスcounterpartと思われる。Kalirinは神経細胞特異的なGDP/GTP交換因子である。シナプスでのKal-9の過剰発現が軸索の形成、伸長を引き起こしているとの報告がある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
175	RGS14 (regulator of G-protein signalling 14)	RBD	1WFY	released	2004.11.27	RGSスーパーファミリーは、Gタンパクによるシグナル伝達系の新たな制御分子群であり、RGSドメインが持つGTPase活性化能により特徴づけられる。このGTPaseは、Gαによるシグナル伝達不活化を促進する機能を有する。なかでもRGS14および12は、同時にそのC末端側に位置するGoLocoモチーフにより、GDI (guanine nucleotide dissociation inhibitor)活性をもっている。この作用は、Gαi/oシグナル特異的に働きGDP解離とGβγ再結合を阻害することで、Gαサブユニット非依存的なGβγサブユニットとエフェクター分子との相互作用を促進することが知られている。解析対象となったドメインは、RGS14に含まれるタンデムな2個のRBD (Rap binding ドメイン)のC末端側のドメインに相当する。本ドメインは、Rap1および2 (Ras family of GTPase: approx. 50% amino acid identity with Ras)と相互作用することが免疫沈降実験により示されている。なおin situ ハイブリダイゼーションにより、脳のとくに海馬CA1およびCA2領域において、RGS14、Gαo、Rap2の局在が一致することから生理的条件下でもこれら分子の相互作用の可能性が示唆されている。本RBDタンパクには、分子表面に深くぼみ形成されていた。このようなくぼみの形成は、これまでに報告されたRBDでも1例(c-Raf1 RBD)しかない。なお、c-Raf1 RBDで対応する領域は、相互作用分子であるRap1との相互作用界面であり、複合体の構造からくぼみが浅くなるように構造変化していることがわかっている。このことから、Rapと相互作用する本タンパクでも同様な構造変化が複合体形成にともない生じると予想される。	
176	iron-sulfur cluster protein U (IscU)	NifU_N	1WFZ	released	2004.11.27	IscUは、鉄硫黄タンパクに含まれるFe/Sクラスター(とくに、[2Fe-2S]2)の生合成に関与するタンパクである。これまでの研究によりFe/S clusterは、次のようなステップで生合成されることが明らかとなっている。まず細胞内でのFeホメオスタシスを制御するFe運搬タンパクfrataxinによって、アポ体IscUにFe <sup>2+</sup> イオンが受け渡される。さらに、cysteine desulfurase (IscS)によりCysから引き抜かれたS2-イオンが、IscUに受け渡され、IscU上でFe/Sクラスターの形成がなされるのである。IscU上でFe/S clusterが形成された後、アポ体の鉄硫黄タンパクにクラスターが引き渡されるが、これらはシヤペロタンタンパクHscAおよびその共役シヤペロンであるHscBにより行われる。なお、IscUは以上の機能発現のために、holo-frataxin、IscS、HscAおよびHscBとそれぞれ相互作用することがすでに明らかにされている。IscUはFe/Sクラスター形成のプラットフォームとして働きわけて重要なタンパクであるといえる。また、本タンパク質は単一のドメインからなる。これまでに、報告されていない新規フォールドを有するタンパクである。	
177	BAB13405 (homolog EXC-7)	RNA-binding domain	1WG1	released	2004.11.27	全長タンパク質は神経細胞の分化において働いている。解析対象ドメインはRNA認識部位である。	
178	Putative zinc-finger protein	zf-AN1 domain	1WG2	released	2004.11.27	配列相同性からzinc-finger proteinであると推定される。このドメインを持つタンパク質の多くはRNA結合タンパクが多く、実際に本研究で解析中のドメインのN末端に塩基性のクラスターが存在することから、このドメインには核酸結合能がある可能性が高い。その構造は、ドメイン内にZinc fingerモチーフが2個存在し2個のZincが結合している。	
179	BAB31986	RRM (RNA recognition motif)	1WG4	released	2004.11.27	スプライシング制御因子、arginine/serine rich 9 SRp30c蛋白質と相同性が高いRNA結合ドメインをもつ。SRp30c蛋白質は、細胞内でのオルタナティブスプライシングの制御を行っており、とくに近年癌細胞におけるアポトーシスに関連するFas抗原蛋白成分の変換に重要な役割を果たしていることが明らかになりつつあり、注目を集めている。このオルタナティブスプライシングを制御することにより、癌細胞におけるアポトーシスを利用した治療法の可能性が開かれると期待される。	
180	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H	first RRM (RNA recognition motif)	1WG5	released	2004.11.27	hnRNP H1蛋白質に現れるRNA結合ドメインである。mRNAの細胞内での保存に関与しており、mRNAの存在状態に大きく関与している。	
181	XP_110852	PDZ domain	1WG6	released	2004.11.27	par (partitioning defective) geneは、多細胞生物に広く保存された遺伝子であり、細胞の極性を決定する因子とされている。PAR3/PAR6/aPKCの複合体が細胞極性やタイトジャンクションの形成にも重要な役割を果たしていると考えられている。	
182	zizimin1	PH (pleckstrin homology) domain	1WG7	released	2004.11.27	zizimin1はRhoファミリーGTPaseの1つであるCdc42を活性化する。その際に、zizimin1のC末端に存在するCZH2ドメインがCdc42と直接に相互作用することが知られている。Cdc42は神経細胞の神経突起伸長に関与していることが知られている。解析対象となったPHドメインはzizimin1のN末端の近くに存在する。	
183	HERP (Homocysteine-Responsive Endoplasmic Reticulum Resident Protein, also known as Mif1)	ubiquitin-like domain	1WGD	released	2004.11.28	ER局在性膜タンパク質Herpは、ER stress (ホモシステインやその他の化合物により誘導される)によりmRNAの発現レベルが有意に増加する遺伝子として同定された。また、Ab (Amyloid β-protein: アルツハイマー病患者において、その老人斑に蓄積がみられるタンパク)の発現を促進する因子としても本遺伝子が同定され、PS (presenilin: Abの生成を担う酵素γ-secretaseを活性化するタンパク)との相互作用が確認されていることから、HerpはPSを介してAb生成促進に関与することにより、アルツハイマー病患者の老人斑におけるAbの蓄積との関与が示唆されている。構造解析をおこなったドメインは、HerpのN末端側に位置するUbl (ubiquitin-like)ドメインであり、本ドメインが欠損により著しくHerpの安定性が低下することから、Herpの安定性の制御に関与していることが示されている。本ドメインの立体構造は、5本のβストランドと2本のαヘリックスからなる典型的なユビキチンフォールドであり、プロテアソームS5aサブユニットのUIM (Ubiquitin interacting motif ユビキチン認識モチーフ)と相互作用するtype2 Ublドメイン(HHR23A)と分子表面を比較したところ、同様の電荷分布や疎水性を示すことから、本ドメインもUIMと相互作用する可能性が示唆される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
184	DESRI(diphtheria toxin and Pseudomonas exotoxin A sensitivity required gene 1)	zf-CSL domain	1WGE	released	2005. 8. 23	DESRIは、バクテリア毒素 (diphtheria toxin(DT), Pseudomonas exotoxin A(ETA)) に対する耐性を獲得した変異CHO細胞 (Chinese hamste ovary cell line)において、毒物耐性をもたらす原因遺伝子として同定された。機能的には、真核細胞の翻訳因子EF-2の翻訳後修飾であるHistidine残基のdiphthamide化に関わるタンパク質である。真核細胞の翻訳因子EF-2の翻訳後修飾であるヒスチジン残基のdiphthamide化は、3つのステップからなるが、DESRIを欠損した細胞では第一ステップである3-amino-3-carboxypropyl transfer反応が見られないため、DESRIはこの第一ステップに関与していると考えられている。本タンパク質は、構造解析対象となったドメインのみから構成されている。上述のように、DESRIは細胞の毒素耐性獲得の原因遺伝子であることから、本タンパク質の機能・構造の解明が進み、毒素耐性獲得の詳細な機構が解明できれば、基礎科学のみならず、有害毒素耐性を獲得した細胞の開発など、タンパク質工学、細胞工学、医療工学分野への成果の波及が期待される。また、本ドメインの立体構造は、これまでに報告されていない新規フォールドである。	
185	UBF1	HMG (high mobility group) box	1WGF	released	2004. 11. 28	UBFはクラスI(rRNA)転写系の基本転写因子の一つである。rRNA遺伝子のプロモーター領域(UpstreamとCoreの2領域からなる)の上流側に結合するのがUBFであり、この結合に伴いTBP(TATA-binding protein)やTAFs(TBP-associated factors)をコアプロモーター領域に誘導し、転写活性が飛躍的に増大する。DNA結合モチーフであるHMG-boxを6個有し、C末端には特徴的な酸性領域を有する。4番目のboxは進化上Xenopusでは無く(Drosophilaにはある)、哺乳類では2番目のboxが失われた スプライシングパリエントが以前から知られている。今回構造解析を行ったのは6つあるHMG-boxの4番目である。HMG-boxはDNA結合ドメインであり、他のタンパク質由来のものを含めた多くの解析から、このドメインは結合に伴ってDNAの構造を大きく変化させる(bending, unwindingなど)ことが知られている。UBFタンパク質については、1番目のboxのみで十分にDNAに結合するという報告もあり、6つ並んでいる点は興味深い。これまでの他のHMG-boxでの解析結果から、L字型の内側の面がDNA結合面である。	
186	ubiquitin specific protease 14 (USP14)	ubiquitin-like domain	1WGG	released	2004. 11. 28	ubiquitin-specific protease 14 (USP14)というタンパク質で、全長494残基の中にN末端からの4残基目～86残基目は本解析ドメインである。神経病の一種である運動失調症に深く関与しているタンパク質であることが明らかになった。運動失調症を罹患しているマウスの脳から本タンパク質が発現されなくなり、中枢神経及び周囲神経システム中にあるsynaptic transmissionの欠損が発生したことがわかった。これはUSP14が哺乳類動物中でsynaptic 活性を調節する重要なプロテアーゼであることを意味する。既存の文献から、本解析ドメインの機能については脱ユビキチン酵素の活性を調節するよりは、むしろ、基質を認識する機能を果たしている可能性があることと報告されている。運動失調症を罹患したマウスを調べたところ、本解析ドメインに由来するタンパク質USP14のイントロンのところにintracisternal-A particles (IAP)の挿入することによる変異が発病の原因であると報告されている。本解析ドメインは特徴的な極性電荷分布表面を持っている。5本のシートによって形成した面には全部プラス電荷を持つ、一方、反対側のヘリックスを持っている面には全部マイナス電荷を持つ極性の強いタンパク質であることが立体構造解析から明らかになった。	
187	ubiquitin-like 3 protein	ubiquitin-like domain	1WGH	released	2004. 11. 28	ubiquitin-like 3かHCG-1というタンパク質で、全長117アミノ酸残基からなるUBL3のN末端 (1～103残基) に存在する。本タンパク質は多細胞の真核生物の間に広範に保存され、アミノ酸の配列上には高い相同性がある (ヒトのUBL3はマウスと99%、D. melanogasterと70%、C. elegansと62%の相同性を持つ)。酵母のゲノム中には欠けており、ヒトの染色体中には13q12-13のところにある。成年ヒトの多臓器中の発現実験においてすべての臓器中から検出されたが、精巣、卵巣及び脳の中から強く発現された。成年マウスの多臓器中の発現実験において脳、心臓、脾臓、腎臓、肺及び胸腺の中から検出された。アミノ酸配列の高い保存性およびタンパク質の発現性からUBL3タンパク質は重要なタンパク質であることが示唆されている。NMR法を用いてUBL3の立体構造を決定し、トランドショナルユビキチン様フォールドを有していることが分かった。UBL3とユビキチンとを比較したところ、ユビキチンの機能に重要な疎水性パッチがUBL3の中にも高く保存されており、ユビキチンのようなタンパク質修飾因子の可能性があると示唆される。更に、β1とβ3の間 (NRPMDWEEEQVS) にユニークな未定義の長いループが存在していることが分かった。このループはUBL3以外のすべてのType I UBL (ユビキチン、NEDD8、SUMOなどのシングルドメインのタンパク質修飾因子のファミリー) の中に存在していない。タイプ I ユビキチン様タンパク質のいずれはユビキチン様フォールドを取っており、其々は異なるenzymatic systemが存在している。UBL3中のこのループが、E1-like酵素と結合するだろう部位の近傍に存在していることから、それがenzymatic systemの特異性を決定する一因子であると考えられる。	
188	ThiS		1WGK	released	2004. 11. 28	全長100残基の小さいタンパク質で、いろいろな種の間で保存されている遺伝子である。今回解析に成功したのはマウス由来のものである。ヒトやラットなどの動物種の間でIdentitiesおよびPositivesは大抵90%以上があるが、イネなどの植物種や酵母中のものに比べ、それぞれ50%および70%くらいに低くなる。ドメインの機能についてはまだはっきりわかっていない。しかし、Identitiesが50%前後、Positivesが70%前後の植物種のホモログはrelated to ubiquitin-related modifier-1, URM1として知られている。また、ubiquitin関連のmodifierのように強く保存されているC末端Gly-Glyのモチーフについては本タンパク質にもすべての種の間で強く保存されていることが明らかにされている。このことから、本解析ドメインはUbiquitin-like protein (Posttranslational modification, protein turnover, chaperones)の可能性があると指摘されている。構造が明らかになることにより、構造の面からいろいろな機能に関する議論が可能となり、次に述べるような知見も得られている。構造上、Moaドメインと非常に似ている。さらに、本タンパク質のC末端にすべての種の間で強く保存されているGly-Glyのモチーフも同じである。また、このフォールドはユビキチンフォールドともよく似ていることが明らかになっている。本タンパク質の機能については、Moaドメインに属し、E1 enzymeのような機能をするMoeBドメインは本タンパク質のC末端のGly-Glyのモチーフとacyl-adenylate結合をすることによって、本タンパク質が活性化され、sulphurtransferaseによってMoaD acyl-adenylateからthiocarboxylateに変わり、Mocoの生合成の過程にsulphur 供与体として働くことと推測できる。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
189	Toll-interacting protein (Tollip)	Cue domain	1WGL	released	2004.11.28	マウスおよびヒトのTollip protein (Toll-interacting protein) は、全長274基で、IL-1Rに作用してIL-1刺激を抑制するばかりでなく、TLR2,4と直接に結合し、TLRシグナル伝達をネガティブに制御する。この作用は、IL-1 receptor-associated kinase (IRAK)を抑制することによっているが、同時にIRAKの基質となってリン酸化される。本研究では、C末端のUBAドメインの構造解析を行った。	
190	Ubiquitin conjugation factor E4	U-box domain	1WGM	released	2004.11.28	酵母のUFD2 (ubiquitin fusion-degradation protein 2)のホモログと言われており、E4と分類されている。E4はユビキチン化過程におけるポリユビキチン化に関与するmodifierと定義されている。	
191	ubiquitin associated protein	UBA (Ubiquitin associated) domain	1WGN	released	2004.11.28	本タンパク質はマウス及びヒトが持つユビキチン関連タンパク質で、全長502アミノ酸残基であり、本解析ドメインはN末端からの381~430残基目のUBAドメインである。ヒトが持つ本タンパク質はGene mapの9p21-22のところにあり、9番染色体上のloss of heterozygosity (LOH)が、多くのがんでよく見られる遺伝子の変化のひとつの原因であるため、9番染色体の短いアームに多数の腫瘍抑制遺伝子が含まれていると思われる。本タンパク質は心臓や脳、肺、肝臓、胎盤、腎臓、膵臓、筋肉など多くの組織中に発現されており、その大きさは約2.7kbである。UBAドメインを含むタンパク質はユビキチン化システム中のmultiple enzymeとして特異性のある結合に関与していると暗示されていることから本解析ドメインはユビキチン経路およびprogreessionの中に重要な役割を果たしていると考えられる。	
192	VPS10 domain-containing receptor Sorcs2	PKD domain	1WGO	released	2004.11.28	全長はVPS10ドメイン1つとPKDドメイン1つから成り、VPS10がレセプター機能を担っていると考えられている。VPS10は菌類・後生動物にしか見つかっていないらしい。PKDドメインは様々な全長タンパク質に見出され、全生物種に存在している。多発性嚢胞腎 (polycystic kidney disease) に関係するドメインに類似しているファミリーであるためこう名づけられた。	
193	cyclic nucleotide-regulated ion channel	cNMP-binding domain	1WGP	released	2004.11.28	細胞内2次メッセンジャーcAMP/cGMPをリガンドとするカチオンのイオンチャネル中のcNMP結合ドメインである。動物では視覚系や嗅覚系の信号伝達に関係する膜タンパクで機能から構造までよく研究されている。このタンパク質はArabidopsis由来であり、植物でも類似のシグナル伝達系が存在する可能性が示唆された。	
194	ethanol decreased 4 protein	PH (pleckstrin homology) domain	1WGQ	released	2004.11.28	エタノールにより誘起した細胞内カルシウム濃度上昇が、マウス胚盤胞の遺伝子発現を変えた実験が報告されている。実験によると、10個up-regulated geneと4個down-regulated geneが見つかった。Fgd6は新規のdown-regulated geneの一つであることがわかった。Fgd6は、名前通り、FYVE、RhoGEFとPHドメインを含み、そのPHドメインを今回解析した。ポケットがあり、PIPアナログと結合する可能性がある。	
195	Grb7 protein	RA domain	1WGR	released	2004.11.28	Grb7は、Grb10およびGrb14とともに、よく保存されたSH2ドメインとPHドメインを持つ典型的なアダプタータンパクGrb7ファミリーに属する。Grb7は、integrin-FAK信号伝達経路のdownstream mediatorとして、細胞遊走を調節する機能が示唆されている。SH2とPHドメインに加えて、Grb7のN端に、プロリンリッチ領域およびRA (Ral GDS/AF6 or Ras-Associating) ドメインがある。本研究では、このRAドメインの構造解析を行った。RAドメインは、細胞増殖に重要なRas信号伝達経路に関与すると考えられる。全長タンパクGrb7に関して、SH2ドメイン欠損のGrb7 スプライズバリエントは、浸潤性食道癌に関連することが報告されている。	
196	histone acetyltransferase homolog	Tudor domain	1WGS	released	2004.11.28	Myst1はhistone acetylation transferase (HAT)として機能し、MYSTファミリーのメンバーである。NMR構造解析から、本解析ターゲットにあたるN端は、Tudorドメインになっていることがわかった。そのため、Myst1は少なくともTudorドメインとHATドメインからなることが初めてわかった。Myst1のTudorドメインの機能は、一般的に、RNA結合やタンパク結合 (eg.メチル化されたヒストン) に参与することが知られている。構造上、β3とβ4間は芳香族性の残基に富んでおり、RNAやタンパクの結合サイトだと思われる。	
197	APBB2	C-terminal phosphotyrosine interaction domain	1WGU	released	2004.11.28	Alzheimer disease locus amyloid protein precursor (APP)の細胞質ドメインが、4種類のphosphotyrosine-binding (PTB) proteinと結合することが知られている。Human brain cDNA libraryのyeast 2-hybrid screeningによりヒットした3種のタンパク質のひとつがAPBB2である。APBB2は、2つのPTBドメインと1つのWWドメインからなる。本解析ターゲットはC末端のPTBドメインで、APPの細胞質尾部に結合する。	
198	KIAA1068 protein	CS domain	1WGV	released	2004.11.28	ヒトKIAA1068タンパクは、kiaa1068遺伝子によりコードされたタンパクで、そのC端にnuclear movement proteinあるいはNudCとホモログを持つ。NudCの哺乳類ホモログは新皮質形成に重要なneuronal migration proteinのLis1と相互作用することが報告されている。今回解析したCSドメインは、HSP20様フォールドになっていることから、Hsp90に結合するなどコシャペロンとして働く可能性があると思われる。構造的には、β サンドイッチのHSP20様フォールドになっている。	
199	putative signal recognition particle 54 (SRP54)	N-terminal domain	1WGW	released	2004.11.28	翻訳と同時に起きる、膜を貫通しての、あるいは膜へのタンパク質の移行は、すべての生物界において生命維持に必要なプロセスである。そのために翻訳を行っているリボソームが、進化的によく保存されたリボ核酸タンパク質粒子であるシグナル認識粒子 (SRP) によって膜に導かれる。SRPはリボソームから出てくる新生タンパク質鎖のシグナル配列を認識し、その後、受容体 (SR) と結合する。SRPはRNAといくつかのタンパク質により構成される。その中、SRP54は古細菌、真正細菌、真核生物まで保存された唯一のタンパク質である。SRP54は、Nドメイン、GドメインおよびMドメインの三つのドメインから構成される。GドメインはGTPase活性、Mドメインはシグナル配列認識とRNA結合の機能を持つことが知られている中、Nドメインの機能不明であったが、最近、Nドメインは、GドメインとMドメイン間のコミュニケーションを担うこと、また、リボソームタンパクと結合することが報告された。構造はFour-helix-bundleフォールドである。SRG54のNドメインの特徴として、よく保存されている-ALLEADVがGドメインとの結合サイト、Gドメインの反対側にある二フループが、リボソームタンパク質との結合サイトである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
200	RSGI Ruh-022	myb_DNA-binding domain	1WGX	released	2004. 11. 28	本タンパク質の最も相溶性が高いタンパク質が14番目染色体上のオープンリーディングフレーム106にコードされている putative protein p243[Homo sapiens]でこのタンパク質は転写因子Sp1と相互作用することが知られていること、またmyb DNA 結合ドメインの機能から、転写に関わるタンパク質であることが予想される。myb DNA 結合ドメインは、タンパク質 SWI3、ADA2、N-CoR、TFIIIBに存在するDNA結合ドメインSANTとともにZeste DNA 結合ドメインに分類される。血球分化特異的転写因子であるc-MybのDNA結合ドメインであり、G/C richモチーフという特異的DNA配列への結合に機能する。このドメインは転写抑制複合体の調整因子のDNA結合ドメインとしても見出される。本ドメインの構造は3本のヘリックスからなり、典型的なDNA結合型ヘリックス・ループ・ヘリックス構造である。	
201	guanine nucleotide exchange factor for Rap1	RA domain	1WGY	released	2004. 11. 27	全長タンパク質は、GEF活性の有無に関係なく、ERK pathwayを不活性化することでRasによる癌遺伝子のトランスフォーメーションを阻害する。悪性トランスフォーメーションにおいてC3Gは細胞接着機構の構成要素に影響している可能性がある。構造解析の結果、ユビキチンフォールドであることがわかった。ユビキチンは一般にタンパク間相互作用をするものが多いためこのドメインも同じ機能を果たしていると考えられる。β ストランドの前に長いループがあり、この部分がタンパク間相互作用をする部分と思われる。	
202	Ubiquitin specific protease 19(USP19)	CS domain	1WHO	released	2004. 11. 28	Ubiquitin specific protease 19(USP19)自体の機能は明確になっていないが、配列相溶性から脱ユビキチン酵素のファミリーに属すると考えられる。本研究で解析対象としたのは、USP19のN末側領域に存在するCSドメインである。CSドメインは、プロテアソームに結合してその形成と維持に関与していることがわかっている分子シャペロンHeat shock protein 90(HSP90)と相互作用することがある。また、脱ユビキチン酵素ファミリーにはプロテアソームと複合体を形成するものがあることが知られている。従ってUSP19は、本研究の解析対象であるCSドメインを介してHSP90と相互作用することにより、プロテアソームによるユビキチン依存的なタンパク質分解過程に関与することが示唆される。本研究によってUSP19のCSドメインの立体構造が明らかになり、UPS19とHSP90の相互作用様式が解明されたことで、この相互作用を制御し、プロテアソームによるタンパク質分解過程を制御する薬剤を設計することが可能となる。プロテアソームによるタンパク質分解過程と、筋萎縮性側索硬化症(ALS)、ポリグルタミン病を始めとした様々な疾患との関連が近年明らかになりつつあることから、本研究の成果は製薬企業への移転により、疾患の治療薬の開発に寄与すると期待される。	
203	KIAA1095 protein	PDZ domain	1WH1	released	2004. 11. 28	PDZ domain containing RING finger 3 (PDZRN3)としても知られる全長タンパク質は、ring fingerドメインと複数のPDZドメインを持つ。PDZRN3のホモログであるPDZRN1はNotchシグナリング経路の制御を行うNUMBのE3 ユビキチンリガーゼとして働き、そのレベルをコントロールしていることから、PDZRN3でも同様の機能を有すると推察される。解析対象となったドメインは4番目のPDZドメインと予測されている。通常のPDZドメインと同様、二次構造の8セグメント、6つのβ ストランド、2つのαヘリックスを含んでいる。	
204	a hypothetical protein from plant	GYF domain	1WH2	released	2004. 11. 28	本タンパク質は、SWIB、Plus-3、GYFの3つのドメインからなり、植物特有の構成を成している。解析したGYFドメインはプロリンリッチペプチド結合モチーフで、約60残基からなる小さなドメインだが、β1-β2-α1-β3-310-β4-α1のトポロジーを持つ。β2ストランド内にGly-cis-Proという非常に珍しい構成を含む。これらの残基は全GYFドメインで完全に保存されている。β2とα1に挟まれた空間にaromatic ringが多数露出しており、これらがプロリンリッチペプチドと相互作用すると考えられている。また、このGYFドメインの構造解析により植物特有のGYFドメインの特徴(特に結合部位の残基構成)が明らかになるであろう。現在このGYFドメインに結合するペプチドは判明していないが、ドメイン構成が植物特有であることから3つのドメインの複合的な機能解析が必要となろう。	
205	2'-5'-oligoadenylate synthetase-like protein (P59 Oasl)	ubiquitin-like domain	1WH3	released	2004. 11. 28	2'-5' oligoadenylate synthetases (OAS) はdsRNAと結合することで活性化して、2-5A oligomersを生成する。この2-5A oligomersはRNase Lを活性化して、ウイルス感染によるタンパク合成を抑制する。p59OASLはOASに近縁のタンパクである。p59OASLをトランスフェクションした細胞において脳筋炎ウイルスに対する抵抗があがること、p59OASLがウイルス転写を阻害するMBD1と特異的に結合することが報告され、他のOASとは異なったアンチウイルス能をもつと期待されている。構造解析対象のユビキチンドメインは、MBD1と特異的に結合することが報告されている。	
206	interleukin-1 receptor-associated kinase4 (IRAK4)	death domain	1WH4	released	2004. 11. 28	NFκBの活性化にいたる経路において、ユビキチンが関与する経路の一つではたらく重要なタンパク質である。シグナル伝達経路上の上流に位置し、MyD88/IRAK4/IRAK/TRAF6の複合体になることでIRAK4のキナーゼが活性化されカスケードが始まること知られている。解析対象ドメインは、IRAK4に含まれるdeathドメインである。このドメインはdeathドメイン同士で結合することが知られているが、このdeathドメインに結合するものは同定されていない。よってそのドメインの探索はIRAK4の機能を考える上で非常に重要となる。	
207	zinc finger homeobox family protein	homeodomain	1WH5	released	2004. 11. 28	ドメイン構成から“zinc finger homeobox family protein”のファミリーの1つであると考えられる。このファミリーはN末にzinc fingerを、C末にホモオボックスを持つ。このタンパク質と比較的高い相溶性をもつ“Flaveria Trinervia”のタンパク質は、“C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase)”の発現に関わっていることがわかっている。なお、このPEPCaseは“C4 photosynthesis”に関わる酵素である。解析対象ドメインホモオボックスは一般的にDNA結合能を持つドメインであるが、本構造も典型的なホモオボックスの立体構造をとっており、同様にDNA結合能を持っていると考えられる。	
208	Homeobox protein Cux-2 (Cut-like 2)	CUT domain (DNA-binding domain)	1WH6	released	2004. 11. 28	全長タンパク質は、神経細胞粘着分子の発現の認識に関与する神経細胞に特異的な転写因子である。このタンパク質には連続する3つのCUTドメインとホメオドメインが3つあり、解析対象ドメインは、その2番目に相当する。CUTドメインはDNA結合タンパクと考えられている。躁鬱病等(bipolar affective disorder)に関与している可能性が示唆されている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
209	hypothetical protein F22K18.140	homeodomain	1WH7	released	2004.11.28	ドメイン構成から“zinc finger homeobox family protein”のファミリーの1つであると考えられる。このファミリーはN末にzinc fingerを、C末にホモボックスを持つ。このタンパク質と比較的高い相同性をもつ“Flaveria Trinervia”のタンパク質は、“C4 phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPCase)”の発現に関わっていることがわかっている。なお、このPEPCaseは“C4 photosynthesis”に関わる酵素である。解析対象ドメインホモボックスは一般的にDNA結合能を持つドメインであるが、本構造も典型的なホモボックスの立体構造をとっており、同様にDNA結合能を持っていると考えられる。	
210	Homeobox protein Cux-2 (Cut-like 2)	CUT domain (DNA-binding domain)	1WH8	released	2004.11.28	全長タンパク質は、神経細胞粘着分子の発現の認識に関与する神経細胞に特異的な転写因子である。このタンパク質には連続する3つのCUTドメインとホモドメインがつらなり、解析対象となったドメインは、3つの連なるCUTドメインの2番目である。CUTドメインはDNA結合ドメインと考えられている。躁鬱病等(bipolar affective disorder)に関与している可能性が示唆されている。	
211	ribosomal protein S3	KH domain	1WH9	released	2004.11.28	解析対象ドメインは、2つの機能をもつことで知られている。一つはリボソーム結合タンパク質、もう一つはDNA修復への関与である。特にDNA修復に関しての情報が少ないので構造解析は有用な情報をもたらすと考えられる。	
212	Scribble (KIAA0147 protein)	PDZ domain	1WHA	released	2004.11.28	ヒトScribbleタンパク質は上皮細胞のタイトジャンクションに局在し、細胞の極性を制御するとともに増殖抑制活性を有すると報告されている。特にHigh risk HPVが感染した子宮頸部で、hScribのPDZドメインにHPV E6 proteinのC末端部位が結合することにより、ユビキチンリガーであるE6APによるhScribのユビキチン化が促進され、hScribの分解が促進されて、子宮頸がんが誘発される可能性が推測されている。	
213	ubiquitin specific protease 8 (UBP8)	Rhodanese-like domain	1WHB	released	2004.11.28	脱ユビキチン酵素の一つであるUBPYに含まれるRhodaneseドメインである。全長タンパク質は、細胞成長/増殖の調節を行っていると考えられ、また、Ras nucleotide exchange factorCDC25Mm/Ras-GRF1のN末側領域と相互作用するという報告もある。	
214	RSGI RUH-027	UBA (Ubiquitin associated) domain	1WHC	released	2004.11.28	本解析ドメインの全長タンパク質はUBA/UBX 33.3 kDa proteinと高い相同性を持っている。UBA/UBX 33.3kDa proteinはN-末端にUBAドメイン、C-末端にCUBドメインを持つことが知られている。なお、UBXドメインはおよそ80残基から構成され、Ubiquitinと低い配列類似性にも関わらず構造の相関性が高いことが既に報告されている。UBAとUBXから構成されているタンパク質の機能やターゲットタンパク質の特異性を決定する上でUBAドメインは重要な役割を持っていると考えられることから、本解析ドメインの構造情報はUBAとUBXから構成されているタンパク質の機能推定に重要であると考えている。	
215	PDZ-RGS3(regulator of G-protein signaling 3)	PDZ domain	1WHD	released	2004.11.28	Eph-Bレセプターと結合し細胞間の情報伝達を担うB-ephrinと結合するタンパク質として同定されたPDZ-RGS3は、B-ephrinと恒常的に結合するPDZドメインとRGSドメインから構成されている。B-ephrinがEph-Bと結合するとPDZ-RGS3は活性化を受け、RGSドメインを介してゲイモカインの一種であるSDF-1による細胞遊走を抑制する。この機構により、PDZ-RGS3は、SDF-1が結合したCXCR4によるGタンパクの活性化を抑制する。構造決定したPDZ-RGS3のPDZドメインは、上記のようにB-ephrin結合を担っており、B-ephrinのC末端側に位置するPDZ-binding motif(YYKV-COOH)を認識することが明らかになっている。オーバーオールな立体構造は典型的なPDZフォールドであり、一般的なPDZドメインに見られる、疎水性残基によるくぼみとそれを取り巻く保存された塩基性残基により形成されているペプチド結合領域と同様の特徴が、今回決定した立体構造にも見られることから、この領域を介してB-ephrinのC末端側と相互作用すると考えられる。	
216	tubulin specific chaperone B	CAP-Gly domain	1WHG	released	2004.11.28	微小管の重合を促進する因子群のうちの1つ。タンパク質中には今回構造決定を行ったCAP-G1yドメインとユビキチンドメインを含む。CAP-G1yドメインは微小管の構成成分であるチューブリンに結合し、ユビキチンドメインは他の重合促進因子と相互作用すると考えられている。	
217	Clip170-related 59KDa protein (CLIPR-59)	CAP-Gly domain	1WHH	released	2004.11.28	CLIPR59タンパク質は、微小管の伸長反応における+エンドに局在するCLIP-170と類似性の高いタンパク質として見出されたが、ドメイン構成は異なっており、異なる機能が予想される。タンパク質のC末端側にゴルジ体に局在化させるシグナル配列を有している。	
218	1700024K14Rik hypothetical protein	CAP-Gly domain	1WHJ	released	2004.11.28	全長タンパク質はhypothetical proteinであり、生体内でタンパク質としての発現は確認されていないが、他の生物種にも相同性の非常に高い配列が存在しているため未知の新規なタンパク質であると推定される。解析対象になっているドメインは、CAP-G1yドメインであり、一般的には微小管に結合する性質を有しているため、今回の構造決定を手がかりに新たな機能解明につながると期待される。	
219	1700024K14RIK hypothetical protein	CAP-Gly domain	1WHK	released	2004.11.28	全長タンパク質はhypothetical proteinであり、生体内でタンパク質としての発現は確認されていないが、他の生物種にも相同性の非常に高い配列が存在しているため未知の新規なタンパク質であると推定される。解析対象になっているドメインは、CAP-G1yドメインであり、一般的には微小管に結合する性質を有しているため、今回の構造決定を手がかりに新たな機能解明につながると期待される。	
220	KIAA0847/CYLD	CAP-Gly domain	1WHL	released	2004.11.28	CYLDはfamilial cylindromatosis(家族性円柱腫症)の原因遺伝子産物として同定されてきたが、近年ではNF-κBの活性化カスケードへの関与が指摘されている。解析中のコンストラクトはCYLDに含まれる3つのCAP-Glyドメインのうちの1番目(N末端側)のものである。3番目のものについては既に構造決定済みである。CAP-Glyドメインは、微小管に結合するモチーフとみなされている。	
221	cylindromatosis tumor suppressor CYLD	CAP-Gly domain	1WHM	released	2004.11.28	CYLDはfamilial cylindromatosis(家族性円柱腫症)の原因遺伝子産物として同定されてきたが、近年ではNF-κBの活性化カスケードへの関与が指摘されている。解析中のコンストラクトはCYLDに含まれる3つのCAP-Glyドメインのうちの2番目のものである。3番目のものについては既に構造決定済みである。CAP-Glyドメインは、微小管に結合するモチーフとみなされている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	PDB ID	状況	リリース日	当該解析のメソッド及び重要性の概要	*成果の産業移転先(予定を含む)
222	hypothetical protein BAB26260	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1WHN	released	2004.11.28	tRNAに含まれるウリジンの5,6-二重結合を還元しジヒドロウリジンにする修飾酵素。tRNAにおけるジヒドロウリジン修飾化は、原核および真核生物、また例は少ないが古細菌など、広い生物種にわたって見られる。ジヒドロウリジンはtRNAのD-ループに多く見つかると。その生物学的役割はまだわかっていないが、tRNAの構造にフレキシビリティを与えるということがわかっている。酵母では、Dus1とDus2が報告されている。前者は、pre-tRNA-Phe、後者は、pre-tRNA-Tyrおよびpre-tRNA-Leuを基質とする。Das1はNADPHまたはNADH要求性で、FADにより活性化される。ミトコンドリアで発現し機能するDasも報告されている。Dasにはジヒドロウリジン・シンテターゼ領域以外に、二重鎖RNA結合ドメイン(DSRM)が一つ含まれる。本タンパク質DSRM4は、後者のドメインに相当する。DSRMの立体構造は既に報告例がいくつかある。典型的なDSRMは $\alpha\beta\beta\alpha$ トポロジーを持つ。しかし、本タンパク質(DSRM4)には、N末端側にもう一本の $\beta$ 鎖が存在する点が新規である。構造解析の結果、4本の $\beta$ 鎖はひとつの $\beta$ シートを形成( $\beta$ 鎖は二組逆平行、一組平行)し、二本の $\alpha$ ヘリックスに裏打ちされた様相を呈している。	
223	DEAD/H box 9, DDX9, RNA Helicase A (RHA)	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1WHQ	released	2004.11.28	Drosophila maleless (MLE)のヒトホログである。DEAD/H (Asp-Glu-Ala-Asp/His)ファミリーに属するATPase/ヘリカーゼでRNAとDNAを3'から5'の方向にほどく。RNA:DNAハイブリッドもほどく可能性がある。核内に多いが、核・細胞間を行き来する。Type D レトロウイルスのconstitutive transport element (CTE) RNAと結合する。CTE RNAは、哺乳類宿主においてviral genomic RNAの核から細胞質への輸送に働いている。CTEはloop Aとloop Bから構成されており、いずれも対称性の高いインターナル・ループとA-richバルジを有する。TARを介したHIV-1遺伝子発現に重要で、Coactivator CREB-binding protein (CBP)とRNAポリメラーゼ IIの結合を仲介している。Breast cancer-specific tumor suppressor protein (BRCA1)と結合する。最近の報告で、RHAはprespliceosomeの構成分子であることが示唆された。このように、HIVや乳癌などの病気との関連がある。二つのDSRMを含むN末端領域で以下のタンパク質および核酸と結合すると推定される。	
224	hypothetical protein BAA76846	R3H domain	1WHR	released	2004.11.28	R3Hドメインは、一般にRNA結合蛋白質に現れるドメインである。今回解析されたものは3例目であり、その構造から機能の推定への道が開かれると考えられる。	
225	hypothetical PNPase	alpha-helical domain	1WHU	released	2004.11.28	mRNAの分解に関与する。分解活性に関与するふたつのドメインをつなぐリンカーの役割を担っていると考えられるが、構造解析の結果堅い構造を保っていることが明らかになった。この結果、ふたつのRNAaseドメインの相対位置を固定する働きがあると考えられる。	
226	BAB23382	RNA-binding domain	1WHV	released	2004.11.28	ヒトpoly(A)-specific ribonuclease (PARN)は、639アミノ酸残基からなる73.5kdのタンパク質であり、核と原形質に局在する。ヒトPARNは、3'側を切断するエキソヌクレアーゼのRNase Dファミリーである。PARN活性は、PAB1によって部分的に阻害され、ポリアデニル化されたRNAのpoly(A)を除去する。	
227	hypothetical protein BAB23448	N-terminal RNA-binding domain	1WHW	released	2004.11.28	RNPタイプRNA結合ドメイン(RNPドメイン)のフォールド $\beta\alpha\beta-\beta\alpha\beta$ を有する。立体構造は4本の $\beta$ 鎖がひとつの逆平行型 $\beta$ シートを形成し、二本の $\alpha$ ヘリックスがそれを裏打ちするような様相を呈する。RNA結合蛋白質と考えられるが、DNA結合ドメインも持っており、新規の蛋白質であると考えられる。	
228	catalytic subunit (IRX3) of cellulose synthase	RING-finger	1WHX	released	2004.11.28	全長タンパク質、ドメインとも機能未知であるが、その構造は、RNPタイプRNA結合ドメイン(RNPドメイン)のフォールド $\beta\alpha\beta-\beta\alpha\beta$ を有するため、当ドメインはRNA結合ドメインだと推定される。立体構造は4本の $\beta$ 鎖がひとつの逆平行型 $\beta$ シートを形成し、二本の $\alpha$ ヘリックスがそれを裏打ちするような様相を呈する。このRBDは、核酸認識に重要な、ふたつのよく保存された芳香族アミノ酸を欠いているが、分子表面の他の部分に似たような芳香族アミノ酸のパッチをもっている。RNA認識の生化学的な解析が進むと、新しいRNA認識様式をもつRBDであることが期待される。	
229	hypothetical RNA binding protein BC052180	RRM (RNA recognition motif)	1WHY	released	2004.11.28	三つのRNPタイプRNA結合ドメインを有する。t(1;22)(p13;q13)転座は、infantile acute megakaryoblastic leukemia (AMKL, FAB-M7)(小児巨核芽球白血病)を引き起こす。この白血病は、non-Down症候群の乳児および幼児の骨髄の線維症を伴い、患者は約八ヶ月で死に至る。この転座は二つの遺伝子、つまり、第22番染色体上のMKL1(MAL)および第1番染色体上のRBN15(OTT)のフュージョンを伴う。N末端側にRBM15、C末端側にMKL1、いずれもほぼ全長がフュージョンする。	
230	mitogen activated protein kinase kinase 5 (MAP2K5)	PB1 domain	1WIO	released	2004.11.28	PB1全長は、MEK5のPB1ドメインと90%以上の相同性がある。MEK5は、成長因子、酸化ストレス、高浸透圧条件に応答するERK5をリン酸化し、活性化する。ERK5シグナル伝達経路を制御しているキナーゼの1つである。一般的に、MEK5のPB1は、MEKK2、MEKK3のPB1ドメインと電気的極性によりタンパク質間相互作用し、ヘテロダイマーを形成することが知られている。PB1の変異、欠損では、タンパク質間相互作用を完全に破壊させたことが報告されていることから、PB1ドメインは、タンパク質間相互作用に重要なドメインであると思われる。また、細胞内において、PB1ドメイン単体の発現による競合実験では、ERK5の活性を妨げたことから、PB1ドメインはERK5シグナル伝達経路の制御に重要なドメインである。その構造は、 $\beta\beta\alpha\beta\beta\alpha$ のトポロジーをもつ。	
231	KIAA1121 protein	PH (pleckstrin homology) domain	1WI1	released	2004.11.28	全長は、C2ドメインとPHドメインから成るCAPS (calcium-dependent activator protein for secretion)と高い相同性がある。CAPSは、分泌小胞のCa <sup>2+</sup> イオンを制御するエキソサイトシスに必要な細胞質ゾルのタンパク質であり、PIP2(phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate)の合成を伴うATP依存性プライミングを経て、エキソサイトシスの過程において作用することが報告されている。CPASのPHドメインは、PIP2を含むリポソームに特異的に結合し、膜とも結合することが報告されている。また、CAPSのPHドメインのtriple mutation (R558D/K560E/K561E)は、PIP2と膜との結合能が減少し、エキソサイトシスにおけるCAPSの活性に強い障害を示したという報告がされている。今回、解析したドメインも同様な結合能を持つことが予測され、全長の配列上R597/K599/K600のアミノ酸残基が重要であると考えられる。構造は、 $\beta\beta\beta\beta\beta\beta\alpha$ のトポロジーをもち、典型的PHドメインである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
232	RIKEN cDNA 2700099C19 product	PDZ domain	1WI2	released	2004. 11. 28	全長140残基と、ほとんど1個のPDZ ドメインのみからなるタンパク質である。ヒトの同じく140残基よりなるsingle PDZ proteinがPlasma membrane Ca <sup>2+</sup> ATPase(PMCA) $\beta$ -スプライスアイソフォームと結合し、PMCAのメンブレンターゲティングをコントロールしている可能性が指摘されており、当タンパク質も同様の機能を持っている可能性がある。上記ヒトsingle PDZ proteinはPMCAのC末端部分ETSLという配列を認識する。	
233	KIAA1034 (SATB2)	homeodomain	1WI3	released	2004. 11. 28	全長タンパク質はSATB ドメイン、2つのCUT ドメイン、ホメオドメインの4つのドメインを持つことが知られ、ドメイン部分の配列はSATB2と同一であり、基本的にはSATB2と同じ機能を持つと考えられる。SATB2はpre-B cellの免疫グロブリン $\mu$ locusのnuclear matrix attachment region(MARS)に結合し、遺伝子発現を増強することが知られている。また、中央に位置する2つのCUT ドメインとともに働いてSTAB(special AT-rich sequence binding)の由来ともなっているAT-rich配列を認識すると考えられる。口蓋裂症(CPO: cleft palate only)との関連についても指摘されている。	
234	syntaxin binding protein 4	PDZ domain	1WI4	released	2005. 6. 7	Syntaxin 4 interacting protein(Synip)は557残基よりなり、N末端側よりPDZ ドメイン、EF-hand モチーフ、2つのコイルドコイルドメイン、WWドメインがつながってできたタンパク質である。SynipはSyntaxin 4と結合し、GLUT4小胞のエキソサイトシスを阻害し、グルコースの取り込みを阻害する。SynipとSyntaxin 4の結合はインシュリンにより開放される。解析対象ドメインは、PDZ結合タンパクと結合してSyntaxin 4をつなぎとめ、Syntaxin 4を不活性化する。グルコース代謝と深く関係しており、糖尿病治療との関連で注目されるタンパク質である。	
235	hypothetical protein BAA11502	S1 domain	1WI5	released	2004. 11. 28	S1ドメインはリボソームタンパク質S1や転写因子であるNusAなどに含まれるRNA結合ドメインとして知られている。NusAではKHドメインと共に特異的なmRNAを認識するS1ドメインはKHドメインと共に多くの核酸結合タンパク質中に単独、あるいはタンデムにくり返されていて、特異性とRNA-タンパク質相互作用の強度を調節する役割を担っていると考えられている。本ドメインの構造は、5本の $\beta$ ストランドによって形成される $\beta$ バレル(OB-fold)である。ストランド部位以外のヘリックスやループの長さにはいくつかの種類があることが分かっている。実際、すでに構造決定されている原核生物のS1と比較すると、真核のS1ではヘリックスの長さが長いこと、C末にヘリックスが存在しないことが予想できる。	
236	hypothetical protein BAB23670	RNA-binding domain	1WI6	released	2005. 6. 7	ショウジョウバエの神経細胞の分化に関連すると考えられるELAV蛋白質との相同性をもつ。RBDは、その表面上の特徴から、いくつかのサブグループに属するが、今回の解析結果から、ほ乳類細胞でのLAV-typeのRBDの認識配列の検索に役立つと考えられる。	
237	kinase binding protein 1	SH3 domain	1WI7	released	2005. 6. 14	The regulator of ubiquitous kinase(Ruk)はEGFレセプターやホスホイノシトール3 キナーゼのようなレセプタータイプのキナーゼのリガンド結合に伴うユビキチン化をコントロールすることにより、レセプターのエンドサイトーシスや細胞骨格の再編、アポトーシスをコントロールする蛋白質である。解析された蛋白質は3つあるSH3 ドメインのうちのN末端側より2番目のSH3ドメインであり、class IIタイプのペプチド認識に必要な部分の構造が極めてよく保存されていた。	
238	eukaryotic initiation factor 4B	RNA-binding domain	1WI8	released	2004. 11. 28	蛋白質の翻訳に関するEIF4B蛋白質に含まれるRNA結合蛋白質であり、mRNAのCap構造を認識すると考えられる。この蛋白質の構造解析によって真核細胞に特異的な蛋白質合成のメカニズムの解明が期待される。	
239	hypothetical protein AAH51541	PCI domain	1WI9	released	2004. 11. 28	PCI ドメインは26S proteasome、COP9 signalosome、eukaryotic translation initiation factor 3などの複合体の多数のサブユニットで見つかっているドメインであり、通常タンパク質のC末端領域に位置している。26S proteasomeとCOP9 signalosomeの生化学的な実験より、サブユニット間相互作用に必要であると示唆されたPCIドメインが存在するが、PCIドメインが共通に持つ機能や立体構造については明らかにされていなかったが、今回PCI <sub>1</sub> についての構造を解明したことで、PCI domainはタンパク質-タンパク質相互作用を直接形成する足場になっているのではないかと考えられる。	
240	hypothetical ubiquitin-like protein BAB25500	ubiquitin-like domain	1WIA	released	2004. 11. 28	ユビキチンとは配列上35%程の高い相同性があるが、一般的に良く知られているプロテアソームの分解のシグナルとして機能するK48(またはK29を介するものもあるようだ)は構造上保存されていない。また、K63も保存されていないので、DNA修復やシグナル伝達に直接関与しているわけでもないようだ。一方、ユビキチン様ドメイン(Ubl-domain)を含むタンパク質のユビキチンフォールド領域は、ユビキチン化されたタンパク質をプロテアソームに届けるような(ユビキチンの様な)働きをすることが分かっている。このUblはubiquitin-interactingモチーフ(UIM)と複合体を形成するが、その複合体を形成するのに重要である残基はユビキチンとUblドメインでも保存されていて、本タンパク質でも高く保存されていた。従って、本タンパク質もUIMと結合し、同じような機能をする可能性が考えられる。	
241	hypothetical protein BAB22488	N-terminal domain	1WIB	released	2004. 11. 28	全長タンパク質はリボソームタンパク質L11(真核ではL12)である。L11と、高く保存された58ヌクレオチドとの複合体は、RNA-タンパク複合体の一種である。GTPase-associated region(GAR)に属する。L11-RNA複合体はthiostreptonやmicrococinなどのチアゾール系抗生物質のターゲットになっている。thiostreptonは50Sサブユニットに不可逆的に作用して、EF-GによるGTPの加水分解を阻害する。micrococinは同様に結合し、GTP加水分解を刺激する。L11は2つのドメインから構成され、C末端ドメインは強くRNA 3次構造に結合する。一方、N末端ドメインは抗生物質thiostreptonとの相互作用部位で、RNA近傍領域とスイッチの様結合したり乖離したりする機能を持つと考えられる。	
242	RIKEN cDNA 6030424E15 product	MSP domain	1WIC	released	2004. 11. 28	全長蛋白質はphosphatidylinositol結合ドメイン(SEC14)、MSPドメイン、膜貫通領域からなる全長518残基の膜蛋白質である。本ドメインの構造は、保存された2個のcisプロリンを持つMSPドメイン特有のイムノグロブリン様 $\beta$ サンドイッチ構造である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
243	RAV1	B3 DNA-binding domain	1WID	released	2004.11.28	高等植物特異的転写因子RAV1はERF(AP2/EREBP)およびB3という2種類のDNA結合ドメインをもつ。B3はオーキシンやアブサイシン酸という高等植物特異的なホルモンによる制御を行う数多くの転写因子群(シロイヌナズナゲノム中に40個以上)の中に共通して存在するが、今までに立体構造が明らかにされていなかった。今回決定された立体構造により、βバレル型というDNA結合ドメインとしては新規性の高い構造が明らかにされた。DNA結合の様式も今までに見られない新しいものと考えられる。DNA結合ドメインのアミノ酸を改変することによって、自然界で本来結合しているものとは異なる塩基配列を認識させる試みが以前より行われている。新規のDNA結合ドメイン構造は、この認識の改変に対して新しい基礎を提供し、将来的には、オーキシンやアブサイシン酸に対する応答性に関する遺伝的改変の基礎となりうる。	
244	RIM binding protein(RBP)	SH3 domain	1WIE	released	2004.11.28	このタンパク質は RIM binding protein(RBP) と呼ばれ、Rab3-interacting molecule(RIM) と電位依存性Ca <sup>2+</sup> チャンネル間を橋架けのように結合する。この機能はシナプス小胞の活性化に関与している。解析ドメインはこのタンパク質のN末に存在し、RIMと結合する。その構造はRT-loop が他の典型的なSH3ドメインより6残基長く、全体的にも特徴的なβ-バレル構造が崩れている。	
245	hypothetical protein	PDZ domain	1WIF	released	2004.11.28	全長266残基のうち、N末端側にPDZモチーフを有する。本タンパク質はhypothetical proteinであるが、PDZドメインを有することから、タンパク-タンパク相互作用に関わることが推測される。その構造はPDZドメインにみられるようなフォールドを持っている。	
246	actin binding LIM protein 2/KIAA1808 protein	LIM domain	1WIG	released	2004.11.28	全長タンパク質はactin-binding LIM (ablLIM) protein 2であり、ablLIMのファミリーに属する。ablLIMは、C末端に赤血球のアクチン結合タンパク質として知られるdematinと約50%の相同性を持つ細胞骨格ドメインを、N末端に4つのLIMドメインを有しており、アクチンをベースにした細胞骨格とLIM proteinの結合パートナーである細胞質内のターゲットとを架橋する役割を持つと予想されている。ablLIMにはいくつかアイソフォームが見つかっているが、全長に対応する産物は主に網膜に存在していることが示唆されている。そして生体内において明瞭な網膜では広範なリン酸化を受けており、その網膜における発生発現が、光受容体の合成と同時に起こっていることが示唆されている。これらのことは、ablLIMが光受容体の発達や合成に特化した役割を持っている可能性を示唆している。解析対象となったLIMドメインはdouble-zinc fingerモチーフを持ち、様々なタンパク質中に見いだされている。他のLIMドメインや種々のタンパク質ドメインと相互作用することから、タンパク質相互作用モジュールとしての機能が考えられている。本ドメインは典型的なLIMドメインと同様に、2本のシートによって形成される逆平行βシートを2組、C末端にαヘリックスを1本有しており、2組のzinc-fingerモチーフはC3H型で亜鉛イオンを配位している。本ドメインの表面電荷分布は、疎水表面、負電荷および正電荷に富む領域がはっきりと分かれているのが特徴的である。	
247	Ribosome recycling factor	domain II	1WIH	released	2004.11.28	ribosome recycling factor (RRF)はタンパク質生合成の終結段階においてmRNAからリボソームを解離させる役割を果たす。全長タンパク質はミトコンドリアに局在しているmitochondrial ribosome recycling factor (MRRF)であり、このファミリーは約260残基で構成され、シグナルペプチドの除去のためのシグナルを持っていないという特徴がある。また、human MRRFはバクテリアのRRFに対して25-30%程度のアミノ酸配列相同性であることが知られている。本ドメインは2本のヘリックスと6本のシートからなり、2組のanti-parallel構造(それぞれ2本と4本のシートで形成される)をもったβ/α/βサンドイッチ構造である。	
248	mouse cDNA product	DUF (domain of unknown function)	1WII	released	2004.11.28	hypothetical proteinであるが、タンパク質の全長が83残基と短く、単ドメインで機能するタンパク質であると予想される。その構造は、3本のシートと1本のヘリックスからなり、保存された4つのシステインからなるzinc-fingerモチーフを1つ有している。構造は長方でN末端側に約15残基程度構造をとっていない領域がある。このフォールドと類似したタンパク質は今のところ見つからず、また、単ドメインで機能すると予想されることから、学問的にもタンパク質工学への利用という点でも興味深い。	
249	EIL3	EIL3-DBD	1WIJ	released	2004.11.28	高等植物特異的転写因子EIN3ファミリーは、シロイヌナズナゲノム中に6個というやや少ないメンバーであるが、植物ホルモンであるエチレンによる応答性における主要な因子群として着目されてきた。EIL3-DBDはそのメンバーであるEIL3のDNA結合ドメインであり、今回決定された立体構造により、5本のαヘリックスからなる、DNA結合ドメインとしては新規性の高い構造が明らかにされた。DNA結合の様式も今までに見られない新しいものと考えられる。DNA結合ドメインのアミノ酸を改変することによって、自然界で本来結合しているものとは異なる塩基配列を認識させる試みが以前より行われている。新規のDNA結合ドメイン構造は、この認識の改変に対して新しい基礎を提供し、将来的には、エチレン応答性に関する遺伝的改変の基礎となりうる。	
250	PKC-interacting cousin of thioredoxin(PICOT)	C-terminal domain	1WIK	released	2004.11.28	Protein kinase C-θ (PKC-θ)はカルシウムに依存しないアイソフォームで、Tリンパ球に発現し、T cellレセプター誘起性の活性化に関与するとされている。本タンパク質(PICOT)は膜に局在し、PKC-θと結合するものとして同定された。PICOTは3つのドメインからなり、今回の解析対象はC末端ドメイン (two tandem repeatsの内一つ) である。全長PICOTの一過性過剰発現はc-Jun N-terminal キナーゼやRas依存性シグナルに関与する転写因子AP-1あるいはNF-κBの活性を阻害することが分かっている。このドメインは植物から哺乳類まで保存されており、PICOTとPKC-θとの結合の仲介をしている。転写因子AP-1やNF-κBの活性を抑制することから、癌など、難治疾患に関与していると考えられる。thioredoxinのフォールドに良く似ており、thioredoxinで存在するのと似た相互作用部位を持っていると思われる。	
251	KIAA1045 protein	RING finger domain	1WIL	released	2004.11.28	全長タンパク質は427残基からなり、RING fingerドメインを有している。このドメインは二次構造をとっている領域がほとんど無い。亜鉛を二個配位しており、そのcoordinationはC3HC4である。RING fingerドメインはユビキチンリガーゼとして機能するものがあり、シグナリングの制御に関与している可能性がある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
252	UbcM4-interacting protein 4(UIP4)	Ring finger domain	1W1M	released	2004. 11. 28	UbcM4-interacting protein 4(UIP4)は、ubiquitin-conjugating enzyme(E2)として機能する事が知られているUbcM4と相互作用するタンパク質である。UIP4は三つのドメインから構成されている(RING-IBR-RING)。構造解析したドメインはUIP4の中でN末端にあるRing fingerドメインであり、E2であるUbcM4と結合している事が分かっており、新規のフォールドを有している。今回解析したドメインは、p21の安定性を調節していることが分かっているP53RFP(p53-inducible RING-finger protein)と配列がよく似た(相同性 53%)タンパク質である。UIP4も癌などに関わりの深いp21の機能に関与している可能性があり、UIP4と結合する化合物を見出すことが出来れば、p21の機能を調節する創薬を指向した研究が可能である。	
253	Flotillin 2	Band_7 domain	1WIN	released	2004. 11. 28	細胞膜上に形成されるスフィンゴ脂質とコレステロールに富んだ膜微小領域である脂質ラフト(マイクロドメイン)はシグナル伝達に関与しているとされるタンパク質である。本タンパク質であるFlotillin は、二つのドメインから構成されており(Band_7 - flotillin)、構造解析したドメインはBand_7である。難治疾患であるアルツハイマー病やパーキンソン病は脂質ラフトとの関わりが深いことから、本タンパク質のアルツハイマー病やパーキンソン病との関与が示唆される。	
254	Protein Arginine N-methyltransferase (PRMT3)	Zinc finger domain	1W1R	released	2004. 11. 28	Protein Arginine N-methyltransferase (PRMT3)は、S-adenosyl-L-methionine protein arginine N-methyltransferaseとして機能するタンパク質であり、RNA結合タンパク質をメチル化する。PRMT3は二つのドメイン(zinc-finger domain and catalytic domain)からなり、今回の構造解析の対象ドメインはN末端にあるzinc-finger ドメインである。今回解析したzinc-finger ドメインは、C2H2 zinc fingerモチーフとtyrosine-phosphorylation sequenceを有し、RNA結合タンパク質をメチル化する際の、基質特異性を決定している。	
255	Sidekick-2	fn3 (fibronectin type III) domain	1W1S	released	2005. 7. 19	sidekickは6個のIgドメインと13個のFn3ドメインをもつ膜貫通タンパク質である。さらにC末端に-SXVという配列のモチーフがあり、他のタンパク質のPDZドメインに結合する。またsidekickはsidekick同士で細胞接着の機能を果たす。Sidekickは網膜内においてシナプス前部と後部をつなぐ神経細胞接着の働きをする。PDZドメインと結合することでシグナル伝達への役割を果たしていると思われる。今回解析されたFn3ドメインは5番目のものであり、哺乳類のタンパク質の2%にみられ、細胞外マトリックスにおいてFn3がリピードしたタンパク質が細胞接着やレセプターとして存在する。同一タンパク質上にリピードしているFn3においてもアミノ酸シーケンスの相同性は低いが、構造では相同性が高い。Fn3の表面に出ているアミノ酸がタンパク質間相互作用を決める重要な働きをしていると考えられている。	
256	ubiquitin-specific protease 14(UBP14)	UBA (Ubiquitin associated) domain	1W1V	released	2004. 11. 28	全長タンパク質はユビキチン/26Sプロテアソーム経路によるタンパク質分解において、マルチユビキチンの結合した蛋白質からマルチユビキチン鎖の切り出し、及びユビキチンモノマーへ分解に関与し、ユビキチンのリサイクルに寄与していると考えられている。	
257	HOOK1 protein	DUF (domain of unknown function) 713	1W1X	released	2004. 11. 28	HOOK1 protein (human)のホモログと推測される。HOOK proteinは精子の形態形成に関与する。HOOK proteinを破壊すると、精子の頭の形の異常が報告されている。また、マウスHOOK1 遺伝子は精巣により多く発現していることから、本タンパク質も精子の形態形成に関与することが推測できる。また、構造解析ドメインは、HOOK protein ファミリーに属することから、精子の形態形成に関与することが示唆される。その構造はヘリックスのみからなり、ヘリックスが折りたたまり、全体として球状の構造をとっている。	
258	KIAA1034 proteinSATB family member 2 (SATB2:Special AT-rich binding protein 2)	CUT domain (DNA-binding domain)	1W1Z	released	2004. 11. 28	DNA-binding protein SATB2 は転写活性因子としての機能を持ち、pre-B細胞、腎臓や脳に豊富に発現する。解析対象ドメインは、MAR (Nuclear matrix attachment region) 配列と結合する。その構造は、5本の $\alpha$ -ヘリックス(基本構造はC末のヘリックスがない)である。口蓋裂との関与が指摘されており、この構造の解明が治療への応用につながるかもしれない。	
259	SQUAMOSA promoter binding protein-like 12	DNA-binding domain	1W1J0	released	2004. 11. 28	SQUAMOSA promoter binding proteins (SBPs)は、花の発育に関連した植物に特異的な転写因子の主要なファミリーを形成している。SBPsの一次構造は不均一であるが、亜鉛結合と推測されている高度に保存されたDNA結合ドメイン (DBD)を共有している。解析対象ドメインはこのDBDドメインである。	
260	Numb	PID domain	1W1J1	released	2004. 11. 28	神経形成においてNumbは、少なくとも細胞間の相互作用に仲介されるNotchのバイアスのため、娘細胞が異なった運命を選択するための非対称的な分裂に必要である。皮質の神経形成において、Numbは非対称に局所化し、心室性神経の原体が分離した先端の皮膜となる。分裂平面の方向付けにおいて、Numbは1つもしくは両方の娘細胞へ分配され、胚が発生したとき、神経の前駆体へ非対称に分割し、Numbの変異体の表現型をレスキューする。	
261	WRKY4 transcription factor	WRKY domain	1W1J2	released	2004. 11. 28	このタンパク質は主として防御反応に関連すると考えられているWRKY転写因子ファミリーのメンバーである。解析ドメインはDNAに配列特異的に結合する。	
262	PANG (plasmacytoma-associated neuronal glycoprotein)	fn3 (fibronectin type III) domain	1W1J3	released	2004. 11. 28	全長タンパク質はPANG (plasmacytoma-associated neuronal glycoprotein)と呼ばれ、脳特異的に発現され、軸索の成長や移動に関与する神経系の糖タンパク質である。形質細胞種では異常なサイズのPANGの発現が見られる。解析対象ドメインは他のタンパク質同様細胞接着に関与していることが推測される。構造は fn3特有の $\beta$ -サンドイッチ構造である。	
263	KIAA0794	UBX domain	1W1J4	released	2004. 11. 28	全長タンパク質は、UASとUBXドメインを持つことが知られている。解析対象となったUBXドメインは、ubiquitin制御タンパク質やFAS-associated factor 1 (FAF-1)、Rep-8 reproductionタンパク質などに含まれていることが知られている。FAF-1のUBXドメインは感染細胞のアポトーシスを引き起こすことが知られている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
264	OB-fold nucleic acid binding domain-containing protein homolog	DUF (domain of unknown function)	1WJ5	released	2004. 11. 28	当タンパク質は、N端側OB-フォールドドメインと本解析に供したC端側未知ドメインの2つのドメインよりなる蛋白質である。得られた構造はwinged HTHモチーフと呼ばれるフォールドをもつ、Wingedヘリックス蛋白質はDNA結合能を持つ物が多いが、このドメインにはDNA結合に必要とされる正電荷に富んだ結合部位が存在せず、代わりに負電荷を帯びた溝を持ち、TFIIIE $\alpha$ やRAP74同様、ペプチドを結合する可能性が示唆された。本ドメインは、winged HTHモチーフの構造において、ヘリックス2とヘリックス3の間にさらにヘリックスと長いループが付け加わった構造をしている。	
265	KIAA0049 product	PBI domain	1WJ6	released	2004. 11. 29	BRCA1(乳癌や卵巣癌に関与している遺伝子; CA125)の隣にあり、NBRIとも呼ばれる。全長に含まれるドメインとしては、43-72残基はOPR(octicosapeptide repeat)、211-256残基はzinc finger、288-329残基はコイルドコイル、917-956残基はUBA(ubiquitin-associated)などが存在する。Two-hybridで、このタンパク質と相互作用するタンパク質が2種(FEZ1、CIB)同定されており、いずれも451-597残基付近に結合部位があることが分かっている。解析対象ドメインPBIドメインはユビキチンスーパーファミリーに属し、機能的にもCIBやFEZ1などとの相互作用を通し、シグナル伝達に関与していることが示唆されていたり、細胞極性の確立に必修であるなど、興味深い。RafのRas結合ドメインとよく似た構造をとり、また、塩基性残基のクラスターからなる表面を持ち、PCモチーフでよく保存された酸性残基と相互作用することが知られている。	
266	RSGI RUH-015	UBA (Ubiquitin associated) domain	1WJ7	released	2005. 9. 5	全長については、ヒトの骨髄組織由来のhypothetical protein KIAA0144 (SwissPfam entry: Y144_HUMAN)とホモロジーがかなり高い。ユビキチン鎖結合ドメインであり、Ubl-UBAドメイン含有タンパク質は分解の促進因子として機能し、ポリユビキチン化タンパク質をプロテアソームに運ぶと言われている。主な機能として、ユビキチンと結合する以外に、DNA修復、DNA損傷、spindle pole body修復、エンドサイトーシスなどがある。	
267	KIAA1443 protein	homeodomain	1WJH	released	2004. 11. 29	全長タンパク質は、真核生物の発生に関与する。解析対象ドメイン、ホメオボックスは、DNAに結合し、遺伝子の発現を制御する。その構造は、3本のヘリックスからなる。	
268	tudor domain containing 3	UBA (Ubiquitin associated) domain	1WJI	released	2004. 11. 29	全長タンパク質は“tudor domain containing 3”と呼ばれているヒト由来の651アミノ酸残基の蛋白質であり、本解析ドメインはN末端からの194-243残基目のUBAドメインである。本解析ドメインは、UBA (ubiquitin activating enzyme, ユビキチン活性化酵素)との配列、構造、およびユビキチンと相互作用すると考えられている疎水性表面の類似性から、UBAと同様にユビキチンに結合能を有する可能性がある。また、本全長タンパク質は、今回解析を行ったUBAドメイン以外に、TUDORドメインを持つ。TUDORドメインも、RNA結合能を持つと考えられている。また、本タンパク質のTUDORドメインは、脊髄性筋萎縮症に関与するSurvival of Motor Neuron (SMN)タンパク質のTUDORドメインとの配列類似性を持つ。	
269	hypothetical protein F2009.120	Residues 14-145 of hypothetical protein F2009.120	1WJJ	released	2004. 11. 29	テロメアに結合するタンパク質複合体の1部分であると思われる。解析対象ドメインは、おそらくDNAと結合するのではなく、タンパク質とDNAの結合を安定化させるためのタンパク質間の相互作用を担っているのだと思われる。	
270	glutaredoxin		1WJK	released	2004. 11. 29	エストロゲンによって、血管内皮細胞の抗酸化防御系であるGlutaredoxinのProtein Thiol-Disulfide交換酵素系が誘導されることが明らかにされている。閉経後の女性では虚血性心疾患や高血圧の発症率が増加することが知られているが、その原因としてエストロゲン分泌低下による抗酸化酵素誘導作用減弱の可能性が考えられている。このタンパク質における $\alpha 2$ の角度が他のglutaredoxinと異なっており、DALIの結果からも全く同じ構造はない。ここが相互作用部位であると思われるのでこの部分は慎重に検討したい。	
271	Cypher	PDZ domain	1WJL	released	2004. 11. 29	Cypherは横紋筋に特有のタンパク質であり、N末端にPDZ領域およびC末端の1つあるいは3つのLIM領域を含んでいる新しいファミリーのメンバーである。ノックアウトマウスは、先天的な筋疾患を示し、多数の横紋筋中の機能的な失敗で出生後に死に至る。Cypherには異なったスプライシングによる2つの変異体があり、このドメインはCypher2のN末端に位置するPDZドメインである。Cypher1とCypher2はN末端のPDZ領域を共有する。しかし、3つのCターミナルのLIM領域はCypher1に特有である。PDZおよびLIM領域の両方はタンパク質タンパク質相互作用において重要であると考えられる。Cypher1とCypher2はPDZドメインを通して $\alpha$ -actinin 2と結合する。一方、Cypher1はそのLIM領域を通してタンパク質キナーゼCと相互作用する。	
272	beta III spectrin	PH (pleckstrin homology) domain	1WJM	released	2004. 11. 29	spectrinは一般的には、細胞質膜骨格の重要な構成成分である。spectrinのホモログとその結合相手は、いくつかの細胞器に結合し、膜タンパク質の分類や小器官の運搬に関与することがわかっている。 $\beta$ spectrinはゴルジや細胞内小胞骨格の重要な構成成分である。	
273	cofactor E	C-terminal ubiquitin-like domain	1WJN	released	2004. 11. 29	$\alpha$ チューブリンと $\beta$ チューブリンのヘテロダイマー形成に重要なタンパク質である。解析対象ドメインは、退行性のチューブリンの会合を導く運動ニューロン細胞死に帰着するモーター軸索の変更に関係する。pnm遺伝子欠陥において、同型接合体のハツカネズミは誕生の時健康に見えるが、厳しい骨格筋虚弱および出生3週後呼吸の失敗に帰着する進行性の運動ニューロン疾病を発病する。	
274	plastin 3	CH(calponin homology) domain	1WJO	released	2004. 11. 29	plastin 3は、4つのCHドメインを持ちF-アクチンと結合して、F-アクチン同士を会合する役割を持っていることが知られている。本研究ではこのplastin3のC末端のCHドメインの構造解析を行った。CHドメインは、F-アクチンと相互作用するドメインである。このplastin 3のC末端のCHドメインの構造は、4本の長いヘリックスと2本の短いヘリックスからなる構造をとっている。3本目と6本目のヘリックスがタンパク質のコアを形成しておりその両側にN末端と4番目のヘリックスが挟み込む構造をしている。N末端には、必ず保存されているTRP残基が存在し、この残基が中央のヘリックスと相互作用し、N末端ヘリックスの角度決定している。F-アクチンとの結合においてこのN末端とC末端のヘリックスが重要な役割を演じている。この構造解析より得た構造により、F-アクチンとの結合のシミュレーションなどによりF-アクチンとの結合を詳細に検討することが可能になった。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
275	KIAA1227 protein / zinc finger protein 295	FYVE domain	1WJP	released	2004. 11. 29	全長タンパク質は、BTBドメインと今回構造を解いたFYVEドメインを含むだけである。FYVEドメインはzf-C2H2ドメインが3つタンデムに並んだ構造だった。全長タンパク質の生物学機能は明らかになっていないが、本解析によって得られた構造が機能解析への道を開くことが期待される。	
276	KIAA1798 protein	mbt domain	1WJQ	released	2004. 11. 29	全長タンパク質は、このmbtドメインを3つとC末端にSAMドメインを持っている。SEX COMB ON MIDLEG HOMOLOG 1と似た構成である。全長タンパク質は、このmbtドメインを3つとC末端にSAMドメインを持っている。このタンパクのショウジョウバエのホモログタンパク質は、悪性脳腫瘍タンパク質複合体を形成しているタンパクのひとつとして知られている。mbtと構造ファミリーを形成しているPWWPドメイン、CHROMOドメインは、修飾されたペプチドと結合することが知られている。mbtドメインにおいても基質結合部位に相当する構造が保存されているのでその可能性が高い。その構造は、βシートが豊富な構造でC末端に短いヘリックスが存在している。	
277	KIAA1617 protein	mbt domain	1WJR	released	2004. 11. 29	4つのmbtドメインとC末端にSAMドメインを持っている。全長タンパク質は、このmbtドメインを3つとC末端にSAMドメインを持っている。SEX COMB ON MIDLEG HOMOLOG 1と似た構成である。このタンパクのショウジョウバエのホモログタンパク質は、悪性脳腫瘍タンパク質複合体を形成しているタンパクのひとつとして知られている。mbtと構造ファミリーを形成しているPWWPドメイン、CHROMOドメインは、修飾されたペプチドと結合することが知られている。mbtドメインにおいても基質結合部位に相当する構造が保存されているのでその可能性が高い。本ドメインの構造は、βシートが豊富な構造でC末端にヘリックスが存在する。	
278	KIAA1798 protein	mbt domain	1WJS	released	2004. 11. 29	3つのmbtドメインとC末端にSAMドメインを持っている。全長タンパク質は、このmbtドメインを3つとC末端にSAMドメインを持っている。SEX COMB ON MIDLEG HOMOLOG 1と似た構成である。このタンパクのショウジョウバエのホモログタンパク質は、悪性脳腫瘍タンパク質複合体を形成しているタンパクのひとつとして知られている。mbtと構造ファミリーを形成しているPWWPドメイン、CHROMOドメインは、修飾されたペプチドと結合することが知られている。mbtドメインにおいても基質結合部位に相当する構造が保存されているのでその可能性が高い。本ドメインの構造は、βシートが豊富な構造でC末端にヘリックスが存在する。	
279	TFIIS (transcription factor IIS)	EF1BD	1WJT	released	2004. 11. 29	全長タンパク質は、転写伸長複合体を反応することで、RNAポリメラーゼの転写速度を増加させる転写伸長因子 TFIIS (transcription factor IIS) である。TFIISは、酵母からヒトまで保存されており、古細菌でもホモログが見つかっている。EF1BDは、TFIISのN末端にあるドメインである。このドメインは、酵母からヒトまで保存されており、転写因子 Elongin A と CRSP 70 と相同性がある。ドメインは、RNAポリメラーゼのホロ酵素と結合することが報告されている。EF1BDは、four-helix bundleの構造を持ち、PDZ ID 1E00の鏡像体である。	
280	NUB1 (NEDD8 Ultimate Buster-1)	ubiquitin-like domain	1WJU	released	2004. 11. 29	全長は、601a.aから成る分子量 9.1kDaのNUB1 (NEDD8 Ultimate Buster-1) である。UBI1は、インターフェロン誘導性のタンパク質であり、主に核内に局在する。このNUB1を過剰発現したところ、NEDD8の発現とNEDD8の結合を減少させたこと、また、細胞成長を阻害したことから、NUB1は、NEDD8の発現ダウンレギュレーターであり、細胞成長やNFBシグナリングを含む重要な生命現象を制御すると考えられる。NUB1は、N末端のubiquitin-like (UBL) ドメインとC末端の2つのubiquitin-associated (UBA) ドメインから構成される。NUB1のUBLドメインは、プロテアソームサブユニットRPN10のユビキチン相互作用モチーフと相互作用し、また、RPN1のleucine-rich repeat-like domainと相互作用するであろうと推測されている。本解析ドメインは、ββαββのトポロジーをもつユビキチン様ベータgrasp foldである。	
281	LYAR (Ly-1 antibody reactive clone) protein	Zinc finger domain	1WJV	released	2004. 11. 29	LYAR proteinと約80%の相同性があり、LYARは精母細胞や発達初期の胎児の肝臓、胸腺に多く存在する。また、レトロウイルスベクターから由来するLYAR cDNAを過剰発現したマウス線維芽細胞は癌形成能が増加した。以上のことから、LYARは未分化の細胞、早期の分化における細胞の成長に必要であり、さらに腫瘍形成に関与している可能性があると推測されている。LYARのN末のZinc fingerは、in vitroでDNAと結合するドメインと予測されることから、本解析ドメインもDNA結合タンパク質であると予測される。構造は、ββαββαのトポロジーをもつ新規のフォールドであると思われる。1つめのββααにあるCys13-Cys16-His28-Cys32と2つめのββααにあるCys40-Cys43-His55-Cys58は、典型的なββαα-ユニットをもつC2H2-like finger (N末端のβ-hairpin上にある2つのリガンドとC末端のα-ヘリックス上にある2つのリガンドにzincが配位するzinc finger)を形成している。このドメインは、アルギニン、リシンが集まっている部分が存在し、予測どおりDNA結合能があるとするならば、その部分に相互作用する可能性がある。	
282	Phosphoacetylglucosamine mutase	SpoVS domain	1WJW	released	2004. 11. 29	N-acetylglucosamine-phosphate mutaseは、N-acetylglucosamine-6-phosphateとN-acetylglucosamine-1-phosphateの可逆的相互転換に必要とされている。この酵素は、ヌクレオチド糖UDP-GlcNAcの合成に必要であり、また、タンパク質のN-glycosylationは、有糸分裂に重要である。SpoVsは、胞子形成のステージV以外の進行ではポジティブな役割を考えるとされている。SpoVsの変異体は、ステージVにおける胞子形成を阻害し、熱耐性やcoat assemblyの発達を損なうことが報告されている。SpoVSは、ββαββαのトポロジーを持つ、新規のフォールドであると思われる。	
283	DnaJ like protein	J-domain	1WJZ	released	2004. 11. 29	DnaJファミリープロテインは、細胞内における新生タンパク質の折りたたみ反応あるいは熱ショックストレスなどにより変性したタンパク質の巻き戻り反応を介助あるいは制御する機能を有することで知られる。シヤペロンタンパク質群の1つに属する。DnaJに含まれるJドメインはHsp70ファミリープロテインとの相互作用およびHsp70プロテインのATPアーゼ活性の制御に関わっている。DnaJファミリープロテインは神経細胞で実験的に形成されたタンパク質の封入体形成を阻害することが最近明らかにされた。したがってDnaJ関連タンパク質の構造研究はアミロイドーシスといったミスフォールディングによって引き起こされる神経疾患等の治療法開発が将来的に期待できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
284	KIAA0970 protein ; Fibronectin type III domain containing protein 3(FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	1WK0	released	2004.11.29	KIAA0970タンパク質はヒトの脳由来のcDNAクローンの完全長配列決定により発現が予想される大型タンパク質である。配列中にフィブロネクチンタイプ3ファミリー (fn3)に相溶性が高いドメインが8つ存在し、それらはフィブロネクチン型のフォールドを形成していることが予想される。C末側に疎水領域があり膜貫通領域である可能性がある。本件によって解析されたドメインはN末側1番目のフィブロネクチン型ドメインに相当する。NMR解析によって決定された立体構造は他のfn3と極めてよく似たものであることが明らかになった。興味深いことに他のfn3では見られない10残基に及ぶ長いヘリックスがN末側に存在し、本解析ドメインが立体構造的な分類上新しいサブグループの一つである可能性が示された。また、溶液中においてこのドメインがメジャーコンホマーとマイナーコンホマーとの明確な混合状態にあることが確認された。さらに、NMRシグナルのパターンよりマイナーコンホマーは変性した構造にあると予想された。この事実から本解析ドメインは比較的に室温でやや不安定な構造を有していると考えられ、まだ解明されていない機能との関連性が示唆される。	
285	hypothetical protein	Lectin C-type domain	1WK1	released	2004.11.29	レクチンは幅広く多くの生物種で確認されているタンパク質であり、さまざまなサブユニット構成を持つ。主に糖鎖認識に関わり、S-タイプとC-タイプに大きく大別される。このうちC-タイプレクチンはその機能発現にCa <sup>2+</sup> を必要とし、オリゴ糖に対する結合親和性は数マイクロモルから数ミリモル程度と考えられている。レクチンは糖タンパク質のアフィニティークロマトグラフィーに利用されるなど生化学工学的利用が多いが、糖鎖認識の特異性を利用して疾病に伴う悪性化細胞の検定や、疾病の治療に直接利用などの医学上の利用が行われている。解析対象ドメインは、レクチンの糖鎖認識を行うドメインに相当し、得られた立体構造は既に決定されているC-タイプレクチンと極めて良く似たものであることが明らかになった。90度近く曲がっているベータシートを含む6本のベータシートにより構成されるベータバレル構造を分子内に持ち、二本のアルファヘリックスがバレルを挟むようになっていることが分かった。これらの2次構造によって支えられているループ構造は通常のC-タイプレクチンで見られる糖鎖結合部位を形成しているループ構造と大変よく似ており、したがってCa <sup>2+</sup> との相互作用によりオリゴ糖と結合することが本解析タンパク質においても期待できる。	
286	ribosomal protein L16	RNA-binding domain	1WKI	released	2004.12.14	リボソームタンパク質L16は、リボソーム大サブユニット中のアミノアシルtRNA結合部位の構造を形作る重要なタンパク質である。今回決定した、側鎖を含めた詳細な構造をリボソームの結晶構造(Cαモデル)に重ねてモデルを組み合わせること、L16がtRNAに結合する残基を持つことが示された。avilamycinやevernimicinといった抗生物質に対して耐性を獲得すると知られているL16の変異部位が、リボソーム内部の溝に向かって側鎖が露出している残基に位置していたことから、L16が直接、抗生物質との結合に関わっていることが示唆された。	
287	CGI-38		1WLM	released	2005.7.12	CGI-38はCaenorhabditis elegans(線虫)の遺伝子中に見出され、Mus musculus(ハツカネズミ)の遺伝子においても存在が確認された機能未知のタンパク質である。Caenorhabditis elegansは非寄生性の土壌線虫でありゲノムサイズが小さいこと(約108塩基対)、細胞数が少ないこと(成虫で1000個前後)からこの生物と高等哺乳類との間共通に見出されるタンパク質は極めて重要な機能を有していることが期待できる。CGI-38はCaenorhabditis elegansのbrain特異的に19.4kDのタンパク質として発現していることが確認されているため、神経系の細胞の発生、形態形成、神経細胞の機能発現などと重要な関わりを持つことが予想される。CGI-38ホモログはCaenorhabditis elegansのbrain中に発現することが確認されている。この事実からCGI-38も同様にハツカネズミにおける神経組織での機能発現上重要な役割が期待される。本件により明らかにされた溶液中の立体構造をもとに標識試薬の設計あるいは部位特異的変異体のデザイン等を容易に行うことが出来る。これらの試薬あるいは変異体を用いる細胞生物学的研究はCGI-38の細胞中における機能を明らかにするばかりでなく、関連する遺伝病の治療法確立や治療薬の設計に大いに役立つものと考えられる。	
288	L020827-A02 (FHA)		1WLN	released	2005.7.12	細胞間接着と細胞内骨格を結びつけ、核への情報伝達にも関与しているAfidinのFHAドメインの立体構造。FHA domain特有の11本のβストランドからなるβ-sandwich構造は保存されていたが、リン酸化Thrペプチド結合領域と考えられるloop部分の立体構造およびアミノ酸残基はこれまで報告されているFHA domainと相溶性が低く、異なった基質結合様式または基質特異性に違いがある可能性が予測された。急性骨髄性白血病等いくつかの白血病において、転座に伴うMLLとAfidinの融合産物の発現が報告されており、今回の構造解析はこれらの病気の解明につながる可能性がある。Afidinの機能におけるFHAドメインの役割はほとんどわかっていないが、一般にFHAドメインはリン酸化Thrを含むペプチドとの結合を通して、情報伝達、転写、DNA修復等に関係していることが知られており、がんに関わっている可能性がある。特にFHAの結合部位は他のFHA domainと比べて構造、配列において変化に富んでおり、特異性の高い薬の開発が可能と考えられる。	
289	TT1586		1WLO	released	2005.7.12	高度高熱菌由来の配列保存機能未知たんぱく質の立体構造を解析した。全体として6本のα-helixと3本のβ-strandからなる新規フォールドであった。さらに、β-turnが4回連続したジグザグ構造や5個のProが連続してつながったユニークな構造も見出された。現在のところ、配列のホモロジーのある物を含めても、分子機能は明らかにされていないが、ここで解析された構造がその解明に貢献するかもしれない。	
290	TT1464 (putative minimal nucleotidyltransferase)	Nucleotidyltransfe rase domain	1WOT	released	2004.9.7	ポリメラーゼβ型ヌクレオチド転移酵素の触媒ドメインと違い類縁関係にある一連の細菌由来蛋白質の一つで、機能はまだ解っていないがそのサイズからminimal nucleotidyltransferaseと呼ばれている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
291	hematopoietically expressed homeobox (HEX)	homeodomain	1WQI	released	2005. 3. 29	homeoboxを含むタンパク質は、約60残基からなるDNA結合ホモドメインに分類される転写因子のファミリーに属する。全長タンパク質hematopoietically expressed homeobox (HEX)は胚において血管形成時に内皮細胞(ECs)で過渡的に発現している。HEXは血管発生において負の調節因子として働くことが示唆されており、また、転写因子GATAと結合することで、f1k-1/KDRとGATAとの結合を抑制し、血管内皮成長因子のシグナリングを阻害することが報告されている。最近、HEXタンパク質の通常の細胞と癌細胞における局在の違いから甲状腺の癌化で重要なstepに関与している可能性が示唆された。ドメインの機能はhomeoboxは様々な種で広く保存されており、配列および構造の保存性が高い。特にHTHモチーフを形成している3番目の $\alpha$ -ヘリックスの部分は、非常によく保存されている。一般にhomeoboxはhelix-turn-helix (HTH)構造によってDNAと結合することが知られているが、本ドメインもDNAと結合し、転写の制御に関与するものと考えられる。mouseにおいてHEX遺伝子の欠損は、肝臓形成が不十分となり胚性致死を示すことが報告されている。この事はHEXが胎児の肝臓の発達の開始および単核細胞系統の分化に必須であることを示唆している。典型的なhomeoboxに見られる3本の $\alpha$ -helixがバンドルした構造であり、DNAとの相互作用に関わる2つの $\alpha$ -helixとそれを繋ぐターンからなるHTHモチーフを持っている。homeoboxは特定の配列を持ったDNAを認識・結合することが知られているが、その相互作用の様式はN末端側から3番目のヘリックスがDNAのmajor grooveに入り込み、1番目と2番目のヘリックスを繋ぐループがDNAのbackboneを、またN末端側のアミノ酸がDNAのminor grooveを認識するというものである。塩基配列の認識は3番目のヘリックス(認識ヘリックス)から突き出たアミノ酸側鎖と露出したDNAの塩基との間の特異的な水素結合の形成や疎水相互作用により行われている。本ドメインではTHR53, GLN56, ASN57, ALA60などがこれに相当し、特異的な塩基配列の認識に関与しているものと予想される。	
292	Feline sarcoma oncogene (Fes)	SH2 domain	1WQU	released	2005. 6. 14	Fesタンパク質は非受容体型のチロシンキナーゼであり、トリとネコのレトロウィルス由来のがん遺伝子として最初に同定された。このタンパク質は、骨髄造血細胞、血管内皮細胞、神経の増殖や分化に関与しており、細胞骨格の再構成に関係していることも示唆されている。一般的に、キナーゼのSH2ドメインは自身のキナーゼドメイン、ないしは基質タンパク質のリン酸化チロシン残基と相互作用することにより、自身のキナーゼ活性の制御を司っていることが知られている。今回の解析対象であるFesのSH2ドメインは、Fesのキナーゼ活性の抑制維持に関与していることが示唆されており、pYEX(V/I) (pY=リン酸化チロシン残基、X = 任意の残基)という配列に強く結合することがわかっている。FesのSH2ドメインの立体構造は、6本の $\beta$ ストランドからなる $\beta$ シート上の両面に一本ずつの $\alpha$ ヘリックスが位置する、典型的なSH2ドメインフォールドであり、SrcキナーゼのSH2ドメインの立体構造と極めて良く似ている。	
293	Vps4b	MIT domain	1WRO	released	2005. 8. 2	MITドメインは様々なタンパク質に見られるドメインであるが、詳細な機能は明らかにされていない、Vps4bというAAA-ATP分解酵素に含まれるMITドメインの立体構造解析を行ったところ、MITドメインは3本の逆平行 $\beta$ ストランド東の構造を持っている事が明らかになった。この度使用されたMITドメインを含むVps4bは、多胞体形成に関わるタンパク質だが、SNPがポジション58に存在する事がわかっている。この「SNP」は、人間の「個人差」の根底にある、「遺伝的多様性」の事であり、こうしたSNPの精力的な研究は、個人の遺伝情報を基に薬剤設計をする、「テラメイド薬剤設計」を可能にする。また、逆に特定の薬に対して致命的な副作用を示す個人の診断に繋がる。	
294	Dsk2P UBA with ubiquitin		1WR1	released	2005. 4. 19	ユビキチンは転写、翻訳、細胞周期、アポトーシス、シグナル伝達等生体内で様々な働きを持つタンパク質だが、このユビキチンに結合してユビキチンの機能に作用させる分子の一つがUBAドメインを含有するDsk2pである。このDsk2pがユビキチンと結合している状態での立体構造解析を行った。Dsk2p、ユビキチン、ともに単独で存在している場合でも結合している場合でも特筆すべき構造変化は見受けられなかった。ユビキチンの表面にある、疎水性の $\beta$ シートが、Dsk2pのUBAドメイン部分に認識されて結合が起こると推測されている。単離したUBAドメインとユビキチンの結合性よりも、UBAドメインを含有したDsk2pとユビキチンの結合の方が強かった為、Dsk2pのUBAドメイン以外の部位も何らかの形で結合に関係していると推測される。このタンパク質に異常が起こった場合、ガンを始めとする非常に多くの疾患が引き起こされる事が報告されており、この分子の三次元構造に基づいた根本的理解はとて重要なことである。	
295	SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein	SH3BGR domain	1WRY	released	2005. 4. 29	このタンパク質は、第21染色体上にあるダウン症候群病原と考えられている領域に含まれるSH3BGR (SH3 binding glutamic acid-rich)の中ほどにある、プロリンリッチ領域と高い相同性を持ち、染色体Xq13.3にマップされる。また、このドメインは当該タンパク質のほぼ全長であり、SH3BGRが心筋と骨格筋にのみ発現するのに対し、SH3BGRは組織全体に発現する。SH3BGRと同様にSH3結合モチーフ (PLPP) を持ち、SH3と相互作用していると考えられる。SH3BGRの構造は、 $\beta 1-\alpha 1-\beta 2-\alpha 2-\beta 3-\beta 4-\alpha 3-\alpha 4-\alpha 5$ で、4本のストランドからなる混合 $\beta$ -シート(パラレルと逆パラレル)を中心に、三本の $\alpha$ -ヘリックス(1~2)で側面から囲い込む構造で、thioredoxin fold に似ている。	
296	hnRNP D (AUF1) with telomere DNA	C-terminal RNA-binding domain	1WTB	released	2005. 4. 5	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質D、又は「AUF1」として知られるタンパク質の立体構造を解析した。このタンパク質は一重鎖DNAの末端部分のテロメアと呼ばれる部分と相互作用する事が知られている。一重鎖DNAの末端にテロメアリピートがある場合、この末端部分は四重構造をとり、テロメラーゼによるテロメアの伸長が妨げられるが、AUF1はこの四重構造をほぐす機能がある事が分かっている。AUF1を構成するBD2ドメインがこの機能の中心的役割を果たしていると考えられた。DNAの末端部分、テロメアの長さは細胞のガン化と深い関わりがあり、テロメアが短くなりすぎたDNAを含む細胞では頻繁にガン化が起こる。テロメアを伸ばすテロメラーゼの働きを促進するAUF1の立体構造解明は、これからの細胞レベルでのガン研究にインパクトを与えると期待される。またテロメア長さと老化速度の密接な関係が報告されている事から、老化の研究においても多大な意義を有する研究対象である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
297	Sialic acid synthase	Type III antifreeze-like domain	1WVO	on_hold		全長タンパク質は、ヒト由来シアル酸合成酵素 (sialic acid synthase) (359残基) と同定されている。シアル酸合成酵素は、N-アセチルマンノサミン (N-acetylmannosamine; ManNAc) とホスホエノールピルビン酸エステル (phosphoenolpyruvate; PEP) の縮合反応を触媒し、シアル酸を合成する。触媒として働いているNeuB family (39-278残基) と、そのC末端側に存在するantifreeze-likeドメイン (294-351残基) から構成される。本ドメインは、type III antifreeze protein-likeドメインである。最近の研究で、C末端側に存在するこのantifreeze-likeドメインの欠損により、シアル酸の合成が阻害されること (Chun-Hung Lin, IBC, personal communication) が分かっており、シアル酸合成酵素のantifreeze-likeドメインの重要性・必要性がclose upされてきている。シアル酸に関する疾患として、癌転移、先天的複合糖質代謝異常がある。癌転移に関しては、胃がんに発現してくるシアリルTn (sTn) 抗原、シアリルルイスx (sLa) やシアリルルイスx (sLx) 等の含有ムチンは、がん関連糖鎖と呼ばれ、その発現はがん患者の予後不良と相関することが知られている。また、先天的複合糖質代謝異常に関しては、糖タンパク質や糖脂質等の複合糖質の糖鎖は細胞内小器官であるリソソームに存在するグリコシダーゼによって順次分解され、排泄される。ところが、ある特定の酵素の遺伝子に先天的な異常があると、それから作られる酵素が作用しなくなり、本来分解されるべき糖鎖が細胞内に大量に蓄積し、重篤な病気が発症する。これを複合糖質代謝異常症あるいはリソソーム酵素欠損症と呼ぶ。ヒトの $\alpha$ -マンノシダーゼ欠損症 ( $\alpha$ -マンノシダーゼ) の尿中、組織中、胎児中に蓄積している未分解糖鎖の構造が明らかにされている。最近では、ヒト $\alpha$ -ガラクトシダーゼ (この酵素の欠損症はFabry病と呼ばれる) やヒト $\alpha$ -N-アセチルガラクトサミニダーゼ (この酵素の欠損症はSchindler病と呼ばれる) をCHO細胞を使って発現させることにより、その糖鎖の構造が調べられている。構造上の特性としては、type III antifreeze proteinと同様に、1本の $\alpha$ -ヘリックスと、antiparallelな3本の $\beta$ -ストランドから成る。	
298	ER (Enhancer of Rudimentary)		1WWQ	on_hold		Enhancer of Rudimentary (ER) タンパク質は、enhancer of rudimentary geneによりコードされ、pyrimidine生合成および細胞周期に深く関わると思われる。その起源は古く、細菌から高等植物、哺乳類までに保存されている。ERの立体構造から、立体構造形成に重要な疎水性残基や、機能に重要なリン酸化サイトが進化上特に保存されてきたことが明らかになった。植物から動物まで営むベーシックな細胞プロセスに関わると考えられる。そのため、ERの立体構造解析は、ERの分子機能を知ることだけでなく、潜在な新しい機能ドメインの発現にもつながりそうだ。	
299	Threonyl-tRNA synthetase	TGS domain	1WWT	released	2005.7.18	全長はスレオニルtRNA合成酵素である。解析ドメインのTGSドメインは、t-RAN合成酵素、GTPaseなどに見られるドメインであることから、TGSが各タンパク質の配位子との結合に関与している可能性はたかい。構造は5本の $\beta$ ストランドと2本の $\alpha$ -helixより成るユビキチン様フォールドであった。	
300	unnamed protein*	SAM (Sterile alpha motif) domain	1WVU	released	2005.7.18	SAMドメインのC末端での、別のSAMドメインまたは別のタンパク質との二量体化は、タンパク質機能の活性化もしくは抑制に関わっていると思われる。C端の二量体化、もしくはC末端での他のタンパク質との接着が本解析ドメインの機能である。	
301	connector enhancer of KSR-like protein	SAM (Sterile alpha motif) domain	1WVW	released	2005.7.18	N末端での、SAMドメイン同士もしくは他のタンパク質との二量体化で、タンパク質の活性化もしくは抑制を引き起こすと考えられる。6つのヘリックスを持つ。N末端で二量化するか、他のタンパク質と結合する。	
302	epithelium-specific transcription factor 2	ETS-domain	1WVX	released	2005.7.18	このETSドメインは、全長タンパク質全体のC端のドメインであり、それはSAM_PNT とETSの2つのドメインからなる。PDBデータベースを用いての他のタンパク質との比較から、ETS-ドメインの $\beta$ ストランドの周りにおけるヘリックスがDNA特異性を決定することがわかった。ETSドメイン方向の向いているSAMドメインは、転写の活性もしくは抑制に関与していると思われる。	
303	thioredoxin-like protein	DUF (domain of unknown function)	1WVY	released	2005.7.18	このタンパク質 (thioredoxin-like protein) の分子機能はまだ明らかになっていないが、ゲノム上の位置や類縁タンパク質であるチオレドキシンの機能から、アポトーシスや癌化との関連が想定される。4つのヘリックスと7つのストランドが見られた。52番目から69番目のアミノ酸が形成する $\beta$ ストランドは非常に珍しい形をしていたので、鍵となる役割を果たすのかもしれない。	
304	Nck-2	SH3 domain	1WX6	released	2005.7.20	Nck蛋白質は細胞増殖、分化、移動や細胞骨格形成において、シグナル蛋白質と結合してシグナル伝達の中心的役割を果たす重要な受容体蛋白質である。Nck2の本SH3ドメインは特にPINCHという接合蛋白質のLimドメインと相互作用することが報告されている。SH3ドメインはPXXPをコアとしたプロリンリッチな配列を認識して結合する。Nck蛋白質の強制発現が腫瘍形成を導くことはよく知られており、腫瘍や癌の発生と深いかわりがあると考えられる。5本の $\beta$ ストランドからなる半開きのベータ-バレル構造で、第一 $\beta$ ストランドと第二 $\beta$ ストランド間にRTLループと呼ばれる細長いヘアピン様のループ構造を持つ。また、第四 $\beta$ ストランドと第五 $\beta$ ストランドの間に、3残基程度の短い3-10ヘリックス型のターン構造を持つ。多くのSH3ドメインでRTLループのN末端側、3-10ヘリックス上、第三 $\beta$ ストランドの付け根周辺、そして第四 $\beta$ ストランド中ほどに芳香族残基が保存されており、これらがプロリンリッチ配列を認識し、結合する。	
305	UBQLN3 (human ubiquitin 3)	ubiquitin-like domain	1WX7	released	2005.7.20	本タンパク質はN末端にubiquitin-likeドメインが存在し、C末端にUBAドメインが存在していることが特徴である。その中のubiquitinドメインのアミノ酸配列は異なる種の間にも幅広く保存されている。このタンパク質に対応する遺伝子は染色体の11p15の域に存在し、testis-specificの遺伝子である。構造上は4本の $\beta$ -strandと2本の $\alpha$ -helixによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。極性のある電荷分布表面を持っていることが特徴的である。片方の表面は全部プラス電荷を持つ、一方、反対側には全部マイナス電荷を持つ極性の強いタンパク質であることが立体構造解析から明らかになった。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
306	RIKEN cDNA 4931431F19 (unnamed protein product)	ubiquitin-like domain	1WX8	released	2005.7.20	全長510残基のタンパク質で、N末端からの24~96残基はubiquitin-likeドメインで、467~507残基はUBAドメインである。今回解析したのはN末端からの14~96残基である。ラットのホモロジーからの情報で、このタンパク質はmTOR-interacting protein, ubiquitin 1と名前が付けられ、系統的に保存されたの未知の遺伝子群の一員である。哺乳類細胞中にGST-ubiquitin 1はFLAG-mTOR (1-670残基) に特異的に結合することがわかっており、特にmTORの570~670残基及びubiquitin 1の226~323残基はこの結合実験に必須である。また、ubiquitin 1はrapamycin-insensitive phosphoproteinである。構造上の特性は4本のbeta-strandと2本のalpha-helixによる構成であり、分子構造上はubiquitin super-foldに属する。	
307	BAT3	ubiquitin-like domain	1WX9	released	2005.7.20	BATはHLA-B-associated transcriptである。BAT3はN末端にubiquitin-like domainを持っている。BAT3は大きなproline-richドメインを有し、また、polyproline, polyglycine及び電荷性のアミノ酸残基の短いつながりを持っている。BAT3は大きなproline-rich領域を持つ点の一部の核タンパク質、コラーゲン、エラスチン、及びシナプシンとよく似ている。解析ドメインであるubiquitinは他のヒートショックプロテインのような高度に保存されたストレス応答分子であり、分子シャペロンのように働いている可能性がある。そして、BAT3は末端にubiquitin-like domainを持っていて、その機能はoriginal chaperoning functionから分化されたものの可能性がある。構造上は5本のbeta-strandと2本のalpha-helixによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。5本のbeta-strandで形成されている面は一つ疎水性のポケットが存在しているように見える。また、5番目のstrandと1番目のalpha-helixの間に一つプラスチャージのポケットも存在しているように見える。	
308	AF-6/s-afadin-rat	RA domain	1WXA	released	2005.7.20	細胞接合及びRas相互作用タンパク質AF-6中のPDZドメインのリガンドとしてBcrが同定された。Bcrはタンパク質キナーゼであり、細胞増殖及び細胞癌化の、負の調節因子である。Bcr kinaseはAF-6をリン酸化し、これは結果的にBcrとAF-6の有効的な結合を導く。Bcr及びAF-6は上皮細胞の細胞膜中に局在する。さらに、Bcr、AF-6及びRasは3量体を結成する。BcrはAF-6とRasの結合親和性を増加させ、そして、Bcrのための特異的リン酸化サイトのない変異体については、Rasとの結合が弱くなることがわかった。AF-6は自分のPDZドメインを通してBcrと結合し、また、自分のRas結合ドメインを通してRasと結合する。そして、AF-6は足場タンパク質のようにBcrとRasを細胞接合部に接続する機能を果たしているのではないかと推測できる。さらに3量体はnonproliferating stateの中にmaintain cellと接触するcell-cellのサイトでRasに介されるシグナル伝達の下方向制御に巻き込まれることが暗示されていた。構造上は4本のbeta-strandと2本のalpha-helixによって構成されており、分子構造上はユビキチンスーパーフォールドに属する。	
309	EPS8-related protein	SH3 domain	1WXB	released	2005.7.20	全長はEPS8関連タンパク質である。Racの下流で機能する因子として同定したIRSp53がEPS8と結合して複合体を形成しており、それがRacの活性制御にあたっていることがわかっている。解析ドメインであるSH3ドメインと結合する領域はプロリンリッチでcore-conserved binding motifとしてCPXXPを含むことが知られている。SH3ドメインは、細胞内でのタンパク質の局在化や巨大なタンパク質複合体の形成等、多様なプロセスを仲介すると考えられている。構造的には典型的なSH3構造で、beta-strand3本からなるsheetとbeta-strand2本からなるsheetの2つの直交するantiparallel-sheetからなるbeta-sandwich構造である。相互作用部位はSH3ドメインではN、C末の反対側の面上に存在するTRP, PHE, TYRのいくつかの残基がペプチドPXXPを認識すると考えられており、このドメインでもそのあたりに存在しているI4Y, 16F, 41W, 42W, 53Yあたりが相互作用部位であると考えられる。	
310	v-raf murine sarcoma 3611 viral oncogene homolog 1	Raf-like Ras-binding domain (RBD)	1WXM	released	2005.7.26	全長606残基のタンパク質で、N末端からの19~91残基はRaf-like Ras-binding domain (RBD)ドメインで、310~567残基はProtein kinase domainドメインである。今回解析したのはN末端からの19~91残基である。Raf regulationの研究に関する関心はphosphorylation, dephosphorylation及びscaffolding proteinsに集中するが、Rafは自分でauto-regulatory domainを持っている。活性化したphosphorylationがC末端のkinase domainを切った後のものの活性を必要とする。viral Raf oncogene (v-raf)中に最初発見されたN末端のregulatory domainを除去したことで、kinase domainのRas活性に独立するhigh basal活性を導く。N末端のregulation domainとC末端のkinase domainの間の相互作用は活性化されたRasによって切断された。構造上は5本のbeta-strandと1本のalpha-helixによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。	
311	Nuclear matrix protein	death domain	1WXP	released	2005.7.28	全長タンパク質はRNAプロセッシング(複製、転写、スプライシング)に於いて働く。本解析ドメインであるDeath domain (DD)は、DD-DD contactを形成している他のタンパク質に対し、ホモタイプに相互作用する。DDは、3本のヘリックスが垂直に交差している2つのグループを含んだ構造を基にした、複数のヘリックスから構成されている。つまり6本のヘリックスから成り、1本はアミノ酸残基32-35の相対的に短いヘリックス、他の5本のヘリックスは8~15個のアミノ酸残基からなる。それらのヘリックスは、洞窟のような構造を形成している2つのグループの内部に位置する束である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
312	unnamed protein product	SH3 domain	1WXT	released	2005.8.1	今回のSH3全長は、EPSS8(epidermal growth factor receptor pathway substrate 8)-like protein 3と92%の相同性がある。EPSS8は、epidermal growth factor receptor (EGFR)と他のreceptor tyrosine kinases (RTKs)の基質として同定された。EPSS8について、以下の報告がされている。(1)EPSS8を過剰発現するとEGFに対する分化の応答とEFG依存の形質転換が増加した。(2)多くの腫瘍細胞中で、EPSS8のtyrosineリン酸化が検出された。(3)EPSS8 knock-out miceの線維芽細胞は、RasとRacのシグナルを誘導する能力に障害があった。(4)EPSS8陰性線維芽細胞中にwild-type EPSS8を再発現したところRacとRasのシグナル伝達が回復した。一般的に、SH3は、proline-richなpeptide (XPXP)に相互作用することが知られているが、このEPSS8-SH3 domainは、PXXYの配列を持つペプチドに相互作用することが報告されている。さらに、上記の(4)について、このEPSS8-SH3 domainからアミノ酸5つを欠損した変異体を再発現してもRacとRasのシグナル伝達は回復しなかったことが報告されていることから、シグナル伝達経路において重要なドメインであると思われる。また、上記(2)から、EPSS8は、腫瘍形成を優先的に選択しているであろうと推測されることから、今回、解析しているドメインも腫瘍形成に関与している可能性があるかと推測される。構造上の特性としては、EPSS8-SH3 domainは、PDB登録されているSH3 domainと同様なフォールドを持つことが挙げられる。	
313	peroxisomal biogenesis factor 13	SH3 domain	1WXU	released	2005.8.1	今回のSH3全長は、peroxin13_N domainとSH3 domainの2つのドメインから成る膜タンパク質peroxisomal biogenesis factor 13(Pex13p)であり、Pex14pと共に膜透過装置としてペルオキシソーム膜内に存在する。ペルオキシソームへの輸送シグナルであるPTS1とPTS2はそれぞれPex5pとPex7pに結合し、この膜透過装置を経てペルオキシソーム内へと移行する。一般的に、SH3 domainは、proline-richなペプチド(XPXP)と相互作用することが知られている。酵母Pex13p-SH3 domainは、Pex14pのproline-richな部分(XPXP)がSH3 domainの疎水性ポケット (RT loopとnSrc loopの2つのloopに囲まれているβシート)に結合し、また、Pex5pのWXXXFYがSH3 domainの疎水性ポケットとは異なる部分に結合することが報告されている。これは別に、ヒトPex13p-SH3 domainは、Pex14pとは結合するが、Pex5pとは結合しないことも報告されている。Pex13p-SH3 domainは、PDB登録されているSH3 domainと同様なフォールドを持つ。Pex13-SH3 domainのN末端側にあるよく保存されたTRPがあり、このTRPが酵母Pex13p-SH3 domainでPex14pの結合部位に相当する領域にはまり込んでいた。ヒトPex13p-SH3 domainは、Pex14pと結合しないことから、今回の構造は合理的である。	
314	BCL2-associated anthanogene isoform 1L	ubiquitin-like domain	1WXV	released	2005.8.2	解析されたユビキチン17のドメインは、タンパク質のアミノ酸残基144-222という、アミノ酸配列中の真ん中あたりの部分になる。アポトーシスを抑制する働きをし、胸部肺と経口発がん物質の要因となることが考えられる。	
315	Np95/ICBP90-like ring finger protein (NIRF)	ubiquitin-like domain	1WY8	released	2005.8.9	全長タンパク質である NIRFタンパク質はN末端からubiquitin-like domain、PHD finger、YDG/SRA domain及びRING finger domainによって構成されている。普通のTIG-7及びSWI-38細胞での細胞増殖期におけるNIRFの発現は高いが、G0/G1期には著しく低い。それと同時にtumoral HT-1080及びHepG2細胞中で高いレベルを維持し、NIRFは細胞周期制御に関与していることを示唆する。さらなる研究から、NIRFは自己ユビキチン化活性を持っていること、ユビキチンリガーゼでその基質はPCNPであることを分かった。in vitroやin vivoでもPCNPはNIRFによってユビキチン化される。その機能については細胞増殖に関与する新しいシグナル経路を構成することを示唆する。疾患関連情報としては NIRF geneは9p23-24.1にあり、そこは多数の種類のtumorが出る頻率が高いところである。さらにNIRF geneはいくつかのtumorsのsmall ampliconの中にあるため、NIRFはtumorigenesisのある特徴を持っていることを示唆する。本ドメインは 構造上は5本のβ-strandと2本のα-helixによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。	
316	Skeletal muscle LIM-protein 2	LIM domain	1WYH	released	2005.8.14	細胞分化及び生育調節に関与する。亜鉛に結合してタンパク質-タンパク質相互作用を仲介するシステインリッチなモチーフのLIMドメインが、ホメオドメイン、キナーゼドメイン、細胞骨格のコンポーネント、そして、その他の保存ドメインを含む様々なタンパク質に含まれている。CRPファミリーは、細胞分化や生育調節に関連する様々なプロセスに関与している。CRPタンパク質は2つのLIMドメインを含んでいて、それぞれがCCHCタイプ、またはCCCCタイプという2種類の亜鉛結合モジュールから形成されている。	
317	Protocadherin beta 14	Protocadherin beta 14 (26-137) fragment	1WYJ	released	2005.8.15	cadherinは、カルシウム依存性の細胞-細胞接着タンパク質である。protocadherinは、nonclassic cadherinのサブファミリーを構成している。ドメインの名は、UPF0122となっているが、実際にp-fam、SMARTデータベースの検索では、既知ドメインは検出されなかった。さらにこのドメインは、ほぼ全長に匹敵するので今回解いた構造そのものがcadherinである。つまり、機能は、細胞接着であると思われる。神経細胞間の接着にも寄与しているので神経関連の疾患に影響を持っている可能性は高い。βストランド 8本と短いαヘリックス1本からなる。βバレル様フォールドである。CYS74とCYS78にSS結合が存在する。50-56のループと73-79の短いヘリックスの周囲にくぼみが見られ、N末端のシートの入り口周囲もくぼんでいるように見える。	
318	NEDD9 interacting protein with calponin homology and LIM domains	CH(calponin homology) domain	1WYL	released	2005.8.25	全長タンパク質は、CHドメインとLIMドメインを持つ118kDa、1,067アミノ酸からなり、さらにPPKPP配列を持つ。また、CASL(NEDD9)のSH3ドメインを介して相互作用することが確認されている。CASLは、このNICALを介してintermediate filamentsに結合することで細胞骨格の調節をしている。CHドメインは、アクチン結合のモチーフとして知られているが、一方でアクチンと直接結合しないCHドメインも存在する。構造上の特性としては、4本の長いヘリックスと2本の短いヘリックスからなる構造をとっていることが挙げられる。このうち3本目と6本目のヘリックスがタンパク質のコアを形成しており、その両側にN末端と4番目のヘリックスが挟み込む構造をしている。N末端には、必ず保存されているTRP残基が存在し、この残基が中央のヘリックスと相互作用し、N末端ヘリックスの角度決定している。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
319	transgelin 2	CH(calponin homology) domain	1WYM	released	2005. 8. 15	transgelinは、N末端にCalponin Homology (CH) ドメイン、C末端にCalponin-like repeat (CLR) をもっており、F-アクチンを重合させることが知られている。CHドメインは、アクチン結合を担うドメインとして知られている。しかしながら、transgelinのCHドメインは、直接アクチンと相互作用できないことが近年の研究でわかった。構造上の特性としては、4本の長いヘリックスと2本の短いヘリックスからなる構造が挙げられる。このうち3本目と6本目のヘリックスがタンパク質のコアを形成しており、その両側にN末端と4番目のヘリックスが挟み込む構造をしている。N末端には、必ず保存されているTRP残基が存在し、この残基が中央のヘリックスと相互作用し、N末端ヘリックスの角度決定している。	
320	neutral calponin	CH(calponin homology) domain	1WYN	released	2005. 8. 15	全長は、N末端にCHドメインを持ちC末端にカルポニンファミリーリピートを3つもつ約200残基のタンパク質である。F-アクチンと結合してF-アクチン同士を重合させる。解析ドメインはアクチンに結合するドメインである。しかし、このカルポニンのCHドメインは、このCHドメイン単独では、結合できないことが知られている。細胞骨格を形成するアクチンとの重合を促進することから、細胞分裂などで利用されている可能性が高い。長い4本のヘリックスに短いヘリックスが2本で構成されているヘリックスタンパク質である。	
321	EBF3-L	CH(calponin homology) domain	1WYO	released	2005. 8. 15	全長タンパク質は微小管結合タンパクの一種である。大腸腺腫ポリープ (APC) 抑制タンパク質に結合するタンパク質として yeast two-hybridで同定された。その後の研究で、微小管の+端に結合し、生体中での物質輸送や細胞分裂の際の紡錘体の形成を担っている微小管のダイナミクスに関与することが示唆されている。解析したCHドメインは、もともとアクチン結合のモチーフだが、EB-1やこのEBF3-LのCHは、微小管に結合する。4本のヘリックスと2本のショートヘリックスからなるオールαタンパク質である。	
322	calponins, basic	CH(calponin homology) domain	1WYP	released	2005. 8. 15	全長は、N末端にCHドメインを持ちC末端にカルポニンファミリーリピートを3つもつ約200残基のタンパク質である。F-アクチンと結合してF-アクチン同士を重合させる。解析ドメインはアクチンに結合するドメインである。しかし、このカルポニンのCHドメインは、このCHドメイン単独では、結合できないことが知られている。細胞骨格を形成するアクチンとの重合を促進することから、細胞分裂などで利用されている可能性が高い。構造的には、4本の長いヘリックスと2本のショートヘリックスからなるオールαヘリックスタンパク質である。	
323	Spectrin, non-erythroid beta chain 2	CH(calponin homology) domain	1WYQ	released	2005. 8. 15	全長タンパク質は、N末端にタンデムに二つのCHドメインを持っており、19個のスペクトリンリピート配列を持つ細胞骨格の調節を担っている。主には、F-アクチンとの結合して重合を行なっている。今回解析したCHドメインは、F-アクチンとの結合を行なうドメインである。4本の長いヘリックスと2本の短いヘリックスからなるオールヘリックスタンパク質である。	
324	KIAA0006	CH(calponin homology) domain	1WYR	released	2005. 8. 15	全長のタンパク質は、Rac/Cdc42 guanine nucleotide exchange factor (GEF) 6と同じドメイン構成である。Rac/Cdc42 guanine nucleotide exchange factor (GEF) 6とPARVBタンパク質が結合したものがintegrin-linked kinaseと相互作用することが報告されており、本研究で構造解析のなされたCHドメインがその役割を担っている。CHドメインは、アクチンとの結合するモジュールとして知られている。近年、アクチン以外のタンパクと相互作用するCHドメインも見出されている。構造は、4本の長いヘリックスと2本の短いヘリックスからなるオールヘリックスからなるタンパク質である。このCHの特徴は2本目のヘリックスが他に構造が知られているCHより少し長いことである。	
325	RIKEN cDNA 2310008M20	zf-AN1 domain	1WYS	released	2005. 8. 15	全長タンパク質は、269残基でN末端にこのAN1が2つタンデムに配置されている。本研究で解いた構造は、タンデムに存在する最初のAN1である。今回解析したZNF216のzf-AN1は、タンパク質相互作用が報告されている。構造上の特性は、2個の亜鉛原子が結合していることである。	
326	SUMO-2 (small ubiquitin-like modifier 2)	ubiquitin-like domain	1WZ0	released	2005. 8. 21	ヒトは、ゲノム中に三つのSUMO-1/2/3の機能性遺伝子しかもっていない。その中のSUMO-1は、8つのpseudogene、SUMO-2は23つのpseudogeneを持っているが、SUMO-3はpseudogeneを持っていない。また、SUMO-1はSUMO-2とSUMO-3に対して44%の相同性を持っていることに対し、SUMO-2とSUMO-3の間には86%の相同性がある。たくさんの高分子量の細胞タンパク質はSUMO-1/2/3によって修飾されていたが、フリー状態のSUMO-2/3も検出された。SUMO-1/2/3は主に核膜、核小体か細胞質にそれぞれ局在する。構造上は4本のbeta-strandと2本のalpha-helixによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。解析の結果、sheet3とsheet5の間がubiquitinより広いことがわかり、そこにマイナスのチャージを持つポケットが存在している可能性がある。	
327	HMG-BOX transcription factor BBX	HMG (high mobility group) box	1WZ6	released	2005. 8. 25	全長タンパク質HMG-BOX transcription factor BBXには、検出されたドメインとして、一個のHMG boxドメインしか含まれていない。HMG-BOX transcription factor BBXは、おそらく、DNAに結合するなど、転写因子として働くと思われる。HMG boxは、一般的にDNA結合ドメインとして知られている。また、DNAにspecificに結合するドメインおよびnon-specificに結合するドメインという二種類にクラス分けできる。本解析ドメインはspecificにDNAと結合すると思われる。三本ヘリックスからなるHMG boxドメインフォールドを取っており、分子全体がL型の形をしている。	
328	Pleckstrin	PH (pleckstrin homology) domain	1X05	released	2005. 9. 15	Pleckstrinは血小板に存在し、これはprotein kinase C (PKC)の主な基質である。血小板が活性化されると、pleckstrinにあるSerとThr残基がリン酸化を受ける。また、Pleckstrinは、N端とC端のPHドメインと、真ん中にあるDEPドメインの三つのドメインからなる。PleckstrinのPKCによるリン酸化サイトは、N端のPHドメインとDEPドメインの間にある。構造解析ターゲットのPH_14はC端のPHドメインに相当する。N端のPHドメインは、1994年に構造解析が行われ、Pleckstrin Homolog (PH) というドメイン名の由来にもなっている。N端とC端のPHドメインは、両方ともPI(4,5)P2とGβγのサブユニットに結合することが報告されている。典型的なPHドメインフォールドをとっている。β1-β2間のループ周辺において、塩基性残基が集中しており、脂質結合サイトである可能性が高い。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
329	hnRNP D (AUF1) with telomeric DNA	C-terminal RNA-binding domain	1X0F	released	2005.4.5	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質D、又は「AUF1」として知られるタンパク質の立体構造を解析した。このタンパク質は一重鎖DNAの末端部分のテロメアと呼ばれる部分と相互作用する事が知られている。一重鎖DNAの末端にテロメアリピートがある場合、この末端部分は四重構造をとり、テロメラーゼによるテロメアの伸長が妨げられるが、AUF1はこの四重構造をほくど機能がある事が分かっている。AUF1を構成するBD2ドメインがこの機能の中心的役割を果たしていると示唆された。DNAの末端部分、テロメアの長さは細胞のガン化と深い関わりがあり、テロメアが短くなりすぎたDNAを含む細胞では頻繁にガン化が起こる。テロメアを伸ばすテロメラーゼの働きを促進するAUF1の立体構造解明は、これからの細胞レベルでのガン研究にインパクトを与えると期待される。またテロメア長さと老化速度の密接な関係が報告されている事から、老化の研究において多大な意義を有する研究対象である。	
330	IQGAP1	RGC domain	1X0H	released	2005.9.23	IQGAP1タンパク質は、低分子量Gタンパク質Cdc42/Rac1のエフェクター分子として同定された因子である。その後の解析で、アクチン結合、カルモジュリン結合なども報告されている。最近では、+TIPsであるCLIP-170やAPCを介した微小管との相互作用、ベータカテニンを介して細胞接着因子であるカドヘリンとの相互作用も明らかになった。CLIP-170、APC、ベータカテニン、カドヘリンとの相互作用部位である。がんの転移は、固形癌組織中の細胞どうしの接着が弱められることにより血中に流出し、他の器官へと転移するというモデルが考えられる。細胞接着因子であるカドヘリンは細胞内でカドヘリンを介して細胞骨格と相互作用し、これを足場とすることで接着の強弱が調節されていることが知られている。今回解析を行ったIQGAP1のRGCドメインはまさにカドヘリンとカテニンとの相互作用を阻害する、あるいはCLIP-170、APCを介した微小管との結合におけるアダプター的な役割を果たしているため、癌転移の調節への応用化は検討に値する。	
331	BRDG1 (BCR downstream signaling 1)	PH (pleckstrin homology) domain	1X1F	released	2005.10.4	BRDG1(BCR downstream signaling 1)は、proline-rich motif、PHドメインとSH2ドメインからなり、human B cell line Ramosに豊富に存在する。BRDG1はチロシンキナーゼのTecファミリーの一種であるTecタンパクの基質であり、BCR(B cell antigen receptor)刺激によってリン酸化される。したがって、BRDG1はBCR信号伝達経路上、Tecのdownstream effectorとして働くdockingタンパクであると考えられる。また、マウスBRDG1のオソログの研究により、BRDG1の強制発現は、BCR仲介のCREB(cAMP-response element binding protein)の活性を上昇させたことから、CREB familyの新しい調整機構が示唆された。PHドメインは潜在的な脂質結合ドメインとして、TecとBRDG1を細胞膜にリクルートし、タンパクの局所濃度を増加することによって、TecとBRDG1との相互作用を強化すると思われる。構造的な特性として、典型的なPHフォールドの場合、7本βシートストランドと1本ヘリックスからなるが、PH_13の場合、C端にもう1本のヘリックスが加わることが挙げられる。二本目のヘリックスがあるため、典型的なPHフォールドで溶媒に露出していた残基が、コアに入るようになった。例えば、106G、107Fと110Tなど一本目のヘリックスのC末端にある残基や、43Gと44Tなどβ2-β3間のループにある残基が挙げられる。また、塩基性残基27K、32R、77K、81Kと94Kが集中しているβ1-β2ループとβ5-β6ループの箇所、塩基性残基27K、32R、77K、81Kと94Kが集中して正電荷ポケットを作っており、この部位が脂質結合部位であると思われる。	
332	Pleckstrin 2	PH (pleckstrin homology) domain	1X1G	released	2005.10.4	Pleckstrin 2はpleckstrin familyの新規メンバーとして同定されている。Pleckstrin 2 mRNAは様々な組織に発現する。Pleckstrinは血小板に存在し、protein kinase C (PKC)の主な基質である。血小板が活性化されると、pleckstrinにあるSerとThr残基がリン酸化を受ける。Pleckstrin 2はPleckstrinに比べ、可能なリン酸化サイトは一個しかない。Pleckstrin 2はN端から、PHドメイン、DEPドメインともう一つのPHドメインからなっている。PH_15はPleckstrin 2のC端のPHドメインに当たる。PleckstrinのN端とC端のPHドメインは、両方ともPI(4,5)P2とGγのサブユニットに結合することが報告されている。Pleckstrin 2の二つのPHドメインもPleckstrinと同様、PI(4,5)P2に結合すると思われる。典型的なPHドメインフォールドをとっている。β1-β2間のループ周辺において、塩基性残基が集中しており、脂質結合サイトである可能性が高い。	
333	bone marrow stromal cells-derived ubiquitin-like protein (BMSC-Ubp)	ubiquitin-like domain	1X1M	on_hold		この全長380残基のタンパク質の中に、N末端にUBINやChap1及びubiquitinのようなubiquitin-likeドメインを持っている、一方、C末端にubiquitin-associated (UBA)ドメインを持っている。本タンパク質のmRNAは多くの組織及びtumor linesの中で発現されている。本タンパク質はBMSCの機能および細胞の分化の、evocator- and cell-specific patternを通しての調節に寄与することが示唆されている。既存の研究結果から本解析ドメインの機能及びその基質はまだわかっていない。構造上は5本のβストランドと2本のαヘリックスによって構成されている。分子構造上はubiquitin super-foldに属する。2本目のβストランドと一本目のαヘリックスの間のループは長いのが本タンパク質の特徴であり、しかも、このループは酸性残基のみを持っている。5本のβストランドで形成されている面は一つ塩基性のポケットが存在している。また、2本目のβストランドと一本目のαヘリックスの間に酸性残基のみを持つ長いループが存在している。	
334	osteoclast stimulating factor 1	SH3 domain	1X2K	on_hold		全長蛋白質は、osteoclast stimulating factor 1と呼ばれている。この名前が示すように、破骨細胞の活性化に関与し、骨の再生に重要な役割を果たしていると思われる。また、発癌性を潜在的に秘めている遺伝子Casitas B-lineage lymphoma (Cbl)とこの蛋白質のSH3ドメインが相互作用することも報告されている。	
335	Homeobox protein Cux-2	CUT domain (DNA-binding domain)	1X2L	on_hold		全長タンパク質のドメイン構成は、N末端から3つのCUTドメインとC末端に1つのHomeoboxが存在する。このマウスのホモログタンパク質は、神経系の発生に関与していることが知られているのでこのタンパク質もその機能を有する可能性はたかい。解析したCUTドメインは、DNA結合をすることが知られており、この研究で解析したCUTドメインもそのポテンシャルは、持っているだろう。神経系の発生に関与していることから、神経疾患に関わっている可能性は高い。	
336	LAG1 longevity assurance homolog 6	homeodomain	1X2M	on_hold		ホメオボックスドメインはDNA転写制御因子として働き発生・分化に関与する。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
337	HOX	homeodomain	1X2N	on_hold		PKNOX1は脳の発達に中心的役割を果たす転写因子の一つである。その分子機構として、PKNOX1が脂肪酸結合蛋白質FABP7の上流プロモーターのPbx/POU siteに結合し、FABP7の転写を制御する機構が考えられている。FABP7は発達途中の中枢神経系の放射状グリア細胞や星状細胞内に発現し、後に成熟した脳内で血管や軟膜の表面を覆うグリア境界(glia limitans)、海馬の放射状グリア細胞、小脳のベルクマングリア(Bergmann glia)などに幽閉される。ホメオドメインは約60残基からなり、三本のヘリックスが折れたたまった構造を持つ。転写因子や転写制御因子にしばしば含まれ、DNA結合能を有する。第三ヘリックスをDNAのメジャーグループにはめ込む形で結合する。ダウン症候群など精神発達遅滞を引き起こしている脳内では、FABP7の異常発現がみられることからPKNOX1の異常が関与しているとする報告がある。3本の $\alpha$ -ヘリックスを持ち、第一、第二ヘリックスは逆平行に並び、第三ヘリックスがそれらを横切るようにバックしている。第三ヘリックスが相互作用部位である。	
338	arginine methyltransferase	SH3 domain	1X2P	on_hold		全長タンパク質はアルギニン・メチル基転移酵素である。SH3ドメインが結合する領域はプロリンに富んでおりPXXPをコアの保存モチーフとして持っている。SH3の結合サイトはPROリッチ領域でPXXPモチーフを持つ。SH3ドメインの機能はまだよくわかっていないが、タンパク質濃度を増加させたり、細胞局在を変化させたり、大きな多量体タンパク質複合体の集積に関わったりと、多様な過程に関わっている。構造は典型的なSH3構造で、 $\beta$ -strand3本からなるsheetと $\beta$ -strand2本からなるsheetの2つの直交するantiparallel-sheetからなる $\beta$ -sandwich構造である。SH3ではドメインN,C末の反対側の面上に存在するTRP, PHE, TYRのいくつかの残基がペプチドPXXPを認識すると考えられており、このドメインでもそのあたりに存在している42W, 44W, 53Yあたりではないかと考えられる。	
339	Signal transducing adaptor molecule 2	SH3 domain	1X2Q	on_hold		シグナル伝達アダプター分子STAM1とSTAM2はT細胞の発生と生育に必須であり、肝細胞増殖因子によって調節されている基質に関連している。SH3の結合サイトはPROリッチ領域でPXXPモチーフを持つ。SH3ドメインの機能はまだよくわかっていないが、タンパク質濃度を増加させたり、細胞局在を変化させたり、大きな多量体タンパク質複合体の集積に関わったりと、多様な過程に関わっている。典型的なSH3構造で、 $\beta$ -strand3本からなるsheetと $\beta$ -strand2本からなるsheetの2つの直交するantiparallel-sheetからなる $\beta$ -sandwich構造である。 $\beta$ 4と $\beta$ 5の間に1ターンの3-10 helixがある。SH3ではドメインN,C末の反対側の面上に存在するTRP, PHE, TYRのいくつかの残基がペプチドPXXPを認識すると考えられており、このドメインでもそのあたりに存在している24Y, 26F, 52W, 68Fあたりではないかと思われる。	
340	SYAP1 protein	BSD domain	1X3A	on_hold		全長タンパク質のSYAP1は、神経細胞に特異的に発現しており、神経システムにおいて重要な成分に作用する。解析したBSDドメインは60アミノ酸残基のドメインでBTF2-like transcription factors, Synapse-associated protein, DOS2-like protein中にあるドメインである。BSDドメインは、複合タンパク質中のBTBドメインかU-Boxに結合することが知られている。4つのヘリックスが存在し、それらは4-helical bundleを形成している。	
341	transforming growth factor, beta-induced, 68kDa	Fasciclin domain	1X3B	on_hold		Fasciclinは、4つのFAS (Fasciclin)ドメインが連結している細胞外マトリックスタンパク質 $\beta$ ig-h3である。この4つのFASドメインのうち、2番目と4番目のFASドメインがインテグリン $\alpha$ 3 $\beta$ 1を通じて細胞接着を媒介するために重要であることが報告されている。今回の解析ドメインは $\beta$ ig-h3の4番目のFASドメインである。このドメインのC末端側に位置するDIの配列をそれぞれ変異させると、細胞接着を阻害したことや、EPDIMという配列の合成ペプチドがインテグリン $\alpha$ 3 $\beta$ 1を通じて細胞接着の作用を示すことが報告されていることから、このドメインのC末端側のEPDIMは、インテグリン $\alpha$ 3 $\beta$ 1との結合に重要であることが示唆される。また、構造上の特性としては、今回解析しているFasciclinが、PDB ID 1070, 1NY0と同様なfoldを持つことが挙げられる。	
342	Zinc finger protein 292	C2H2 type zinc-binding domain	1X3C	on_hold		全長タンパク質はZinc finger protein 292であり、9つのC2H2 type zinc-binding domainをもつ。また、このタンパク質はZ-15 transcription factorと高い相同性があり、核内に存在している可能性がある。このことから、転写因子としての機能をもつ可能性がある。今回解析したドメインは、Zinc finger protein 292の5番目のC2H2 type zinc-bindingドメインであり、正確な機能はまだよく解っていない。C2H2 typeは典型的なzinc fingerドメインであり、N末端側のヘリックスがDNAのmajor grooveに結合することが知られている。本解析ドメインは典型的なC2H2 type zinc-bindingドメインであり、 $\beta$ シート上にあるCYS2つとヘリックス上にあるHIS2つにZnが配位している。	
343	Fibronectin type III domain containing protein 3(FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	1X3D	on_hold		全長タンパク質FNDC3(Fibronectin type III domain containing protein 3a)はN末端側のPro-rich領域に続いて9個のfibronectin type IIIドメインから成る膜蛋白質である。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b, CHC1L, LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が高い割合で起こることが知られている。今回解析したのはFNDC3の2番目のfn3ドメインである。一般的なfn3ドメインの機能としては、ヘパリン、コラーゲン、DNA、アクチン、フィブリン、フィブロネクチンレセプターなどの様々な基質と結合し、創傷治癒、細胞接着、血液凝固、細胞分化などの重要な生命現象に関与していることが知られている。今回解析したタンパク質の構造は典型的なfn3ドメインであった。	
344	Leupaxin	LIM domain	1X3H	on_hold		全長タンパク質は、4つのLIMドメインとLDモチーフからなるLeupaxinであり、paxillin (focal adhesion protein、タンパク質間相互作用に関与するLIMドメインとLDモチーフをもつ)ファミリーのメンバーである。このLeupaxinは白血球細胞質内に発現しており、PYK2(second FAK family member)、Fak、paxillin kinase linker p95PKL、チロシンホスファターゼPTP-PESTと結合することが報告されており、シグナル伝達を制御するためのアダプターとして働いていると推測されている。またLeupaxinは、チロシンキナーゼに対する基質であり、チロシンキナーゼ活性によって制御されていると報告されている。今回、解析したドメインはleupaxin中の3番目のLIMドメイン(LIM-3)であり、paxillinのLIM-3と約70%の相同性をもつ。paxillin中のLIM-3は、チロシンホスファターゼPTP-PESTの結合部位に関与するドメインの1つである。これらのことから、LeupaxinにおけるチロシンホスファターゼPTP-PESTの結合にLIM-3が関与していると考えられる。また別の論文では、LIM-3のS457/481はリン酸化されることが報告されている。今回解析した構造は典型的なLIMドメインであった。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
345	NCF2 protein / p67phox	SH3 domain	1X3V	on_hold		p67phoxとp47phoxは、好中球におけるNADPHオキシダーゼの刺激過程においてリン酸化される。SH3の結合サイトはPROリッチ領域でPXXPモチーフを持つ。SH3ドメインの機能はまだよくわかっていないが、タンパク質濃度を増加させたり、細胞局在を変化させたり、大きな多量体タンパク質複合体の集積に関わったりと、多様な過程に関わっている。構造は典型的なSH3構造で、β-strand3本からなるsheetとβ-strand2本からなるsheetの2つの直交するantiparallel-sheetからなるβ-sandwich構造である。β4とβ5の間に1ターン-3-10 helixがある。SH3ではドメインN,C末の反対側の面上に存在するTRP, PHE, TYRのいくつかの残基がペプチドPXXPを認識すると考えられており、このドメインでもそのあたりに存在している14F, 16F, 42W, 57Yあたりではないかと思われる。全長タンパク質は白血病に関連している。	
346	ARAP2	SAM (Sterile alpha motif) domain	1X40	on_hold		全長タンパク質ARAP2は脳、胸腺、脾臓、腎臓、末梢白血球、リンパ節、脊椎、甲状腺に多く存在する。ARAP1はGTP結合タンパク質の活動に関連しており、複数のシグナルのターゲットである。ARAP2の持つ種々のドメインは、ARAP1と非常に類似しており、その機能はARAP1のものと同様であることが推測されるが、ARAP2は他にSAMドメインを含む点でARAP1と異なっており、神経系のシグナル経路との関連も推測される。SAMドメインは真核生物(酵母〜ヒト)に進化的に保存されており、p122、Rho GAP、イノシトール脱リン酸酵素、SHIP2、チロシンキナーゼ Eph 受容体等の情報伝達分子の中に多く見つけられる。Eph受容体は軸索伝導、細胞移動、および血管形成で機能する。よってSAM_7は神経系のEph受容体シグナル経路に関与することが推測される。アンジオテンシンIIが組織や血管などに存在するアンジオテンシンII受容体に結合することで、血液量の増加、血管の抵抗の上昇等のシグナルが伝達され血圧は上昇する。よって、アンジオテンシン受容体に関連したタンパク質であるARAP2は高血圧と深く関係していることが推測される。	
347	Transcriptional adaptor 2-like, isoform b.	myb_DNA-binding domain	1X41	on_hold		全長タンパク質Transcriptional adaptor 2-like, isoform bは、多成分性のSAGA複合体の一部であり、プロモーターに結合した転写制御因子との相互作用を通してSAGAを遺伝子に接続する役割を持つアダプタータンパク質である。転写調節因子のMybファミリーは、細胞周期のG1/S遷移において重要な役割を持つ。mybドメインは全長タンパク質ADA2に存在するDNA結合ドメインSANTと共にZeste DNA結合ドメインに分類される。Myb_DNA-binding4もDNA結合部位を持つDNA binding proteinであり、同様の機能を持つと考えられる。Mybファミリーは、血球新生で中心的役割を果たしている。mybドメインの異常から、細胞の正常な分化が阻害され、白血病を発症するmybドメインの変異体が知られており、mybドメインの研究は、がん発生の機構の解明や種々の転写異常の診断、治療への手掛かりになることが期待される。	
348	SH3-domain GRB2-like B1/endophilin B1	SH3 domain	1X43	on_hold		Endophilin B1はBサブグループに属するendophilinで、endophilin A同様、脂質、脂質Acyl-CoA結合性やリゾフォスファチジン酸のアシル基転移酵素活性等の機能を持つ反面、エンドサイトシスに必要なsynaptojanin 1やsynapsin 1と結合せず、エンドサイトシス活性がないという点で異なる。また、endophilinの脂質結合は、結合したvesicleの形態を変形させることができると知られている。実際、最近の研究より、endophilin B1はミトコンドリア形態の形成・維持に不可欠であることがわかってきた。特にアポトーシスの活性化時のようなミトコンドリアの再構築時にendophilin B1の強い凝集が観測される。Endophilin B1は脂質結合やアシル基転移活性のあるBARドメイン、多量化に関与するcoiled-coil領域、Pro-rich配列を認識するSH3ドメインよりなり、SH3ドメインについて構造解析を行った。SH3ドメインは分子表面にリガンド結合サイトである疎水ポケットがある。その領域は保存された芳香族残基により作られており、Pro-richペプチドが左巻きヘリックス様のコンフォメーションを取って結合する。	
349	Myosin-binding protein C, slow-type/skeletal muscle slow-isform	ig (immunoglobulin) domain	1X44	on_hold		本解析タンパク質は、筋肉にbandをつける脊椎の架橋部分の中にあるThick filament関連タンパク質である。インビトロでは、MHC、F-actin、native thin filamentsに結合し、actin-activated myosin ATPaseを調整する。筋肉の収縮を調節する他、構造的な役割も担っていると思われる。今回解析した免疫グロブリンフォールドは7つのβストランドが2枚のシート(ストランド4つのもとの3つのも)を形成し、サンドイッチ構造をとっていた。	
350	Amyloid beta A4 precursor protein-binding family A member 1/Neuron-specific XII protein	PDZ domain	1X45	on_hold		本蛋白質はX11蛋白質ファミリーに属し、神経細胞にのみ発現されるアダプター蛋白質である。この蛋白質は、Munc-18-1やLIN-2/CASKと結合するN末端領域、アルツハイマー病のアミロイド前駆体蛋白質APPと相互作用するPID(PTB)ドメイン、C端側の2つのPDZドメインよりなる。シナプスベジクルの細胞膜との融合に関与するMunc-18-1やシナプスベジクルの分泌と関係するCASK等と結合できることから、シナプスベジクルの開分泌を行う蛋白質複合体形成の核となる機能を持つと考えられる。また、APPと結合し、アルツハイマー病患者脳に蓄積するタイプのA-beta peptideの生成を阻害することが知られている。この蛋白質はアルツハイマー病のアミロイド前駆体蛋白質APPと結合、安定化し、アルツハイマー病患者脳に蓄積するタイプのA-beta peptideの生成を阻害することが知られている。解析したPDZドメインは、6本のβ-strandと2本のα-helixの計8本の2次構造elementより構成されている。通常PDZドメインは標的膜蛋白質のC末端ペプチドを認識する。ペプチド認識は、第2β-strandと第2α-helixに挟まれた溝にて行われ、第2β-strandと反平行βシートを形成するように結合する。	
351	DGCR8 protein (DiGeorge syndrome critical region 8)	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1X47	on_hold		塩浜等(慶應・医・分生)(Biochem. Biophys. Res. 304(1), 184-190)は染色体22のディジョーニ症候群(DiGeorge syndrome, or thymic hypoplasia, 先天性免疫不全症の一種)(188400)重要領域(CG)中の遺伝子の探索の後、脳のcDNAライブラリーのPCR、さらに(ヒト?)胎児の脳cDNAのスクリーニングを行って遺伝子DGCR8をクローニングした。推定されたアミノ酸残基773からなるタンパク質にはN末端にWWモチーフ一つ、C末端に二つの二重鎖RNA結合モチーフが含まれており、ヒト組織のノーザンブロット分析では偏在的に発現している4.5kbの主要転写物と、精巣のみに見られる3.5kb、1.5kbの転写物が検出された。マウス初期胚に対してDgcr8のin situハイブリタイゼーションを行ったところ、種々の発生段階でマウス初期胚、肢芽、大動脈幹、胸腺、口蓋の神経上皮にシグナルが見られた。関連疾患は、口蓋・心・顔面/ディジョーニ症候群(velocardiofacial/DiGeorge syndrome (VCF/DGS))発達障害の一つで、口蓋の構造・機能異常、コノトランカル(cono-truncal)心臓形成異常、免疫不全、低カルシウム血症、典型的な異常顔面症候群を特徴とする。ほとんどは染色体22q11.2(ディジョーニ症候群重要領域、DSCR)の欠損に起因する。解析した構造はdsrmフォールドをとっていた。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
352	eukaryotic translationinitiation factor 2 alpha kinase 2 (eIF-2 alpha)	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1X48	on_hold		翻訳開始因子eIF2は、40S リボゾームのサブユニットに対する発動因子tRNAの結合を促進しながら、タンパク質合成開始の最初の制御ステップを触媒する。結合によって、メチオニンtRNA、eIF2、CTPの三元複合体が生じる。EIF2は、alpha (36 kD)、beta (38 kD, 603908)、gamma (52 kD, 300161) 3つの同一ではないサブユニットから構成されている。複合体形成の速度は、eIF2-alphaのリン酸化の状態によって、調節されている(Ernst et al., 1987)。本解析ドメインの機能は二重鎖RNA結合である。	
353	eukaryotic translationinitiation factor 2 alpha kinase 2 (eIF-2 alpha)	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	1X49	on_hold		翻訳開始因子eIF2は、40S リボゾームのサブユニットに対する発動因子tRNAの結合を促進しながら、タンパク質合成開始の最初の制御ステップを触媒する。結合によって、メチオニンtRNA、eIF2、CTPの三元複合体が生じる。EIF2は、alpha (36 kD)、beta (38 kD, 603908)、gamma (52 kD, 300161) 3つの同一ではないサブユニットから構成されている。複合体形成の速度は、eIF2-alphaのリン酸化の状態によって、調節されている(Ernst et al., 1987)。本解析ドメインの機能は二重鎖RNA結合である。	
354	ASF-3	RRM (RNA recognition motif)	1X4A	on_hold		オルタナティブスプライシングは発生と分化に非常に重要な役割を果たしている。多くの転写物は、組織や細胞のタイプにより異なる仕方ですプライシングされる。恒常的なスプライシングもオルタナティブスプライシングも、スプライセオソームと呼ばれる、低分子リボ核タンパク質 (snRNPs)、non-snRNP蛋白質で構成される細胞内複合体中で行われる。SRファミリーに属するnon-snRNPスプライシング因子群は、RNA認識モチーフと、serine- and arginine-rich (SR) ドメインを特徴とするスプライセオソーム構築の初期段階に必要な因子群である。オーバーラップはするもの、異なるmRNA前駆体に対応した別々の特異性をもち、スプライス箇所の選択を変えることができる。こうした観察結果はSRタンパク質が生体中のオルタナティブスプライシング制御に関わっている事を示唆する。	
355	heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A2/B1/B0	RNA-binding domain	1X4B	on_hold		スプライシングによるmRNA前駆体の成熟過程は、低分子リボ核タンパク質 (snRNPs) 並びにスプライシング因子、不均一核内リボ蛋白質粒子 (hnRNP) といった蛋白質で構成される細胞内複合体中で行われる。少なくとも20種類程のhnRNPタンパク質があるが、それぞれがRNAを加工する過程で、どんな役割を果たしているのかははっきりしていない。hnRNP A2 A1, B1, B2はhnRNPの基礎的タンパク質サブセットに含まれており、保存されたRNA結合ドメイン2つが保存性の低いグリシンリッチ (gly-rich) ドメインにリンクするという共通構造を持つ。本解析ドメインはRNA結合ドメインである。数々の報告によると、RRMドメインはRNAと結合するだけでなく、異なる結合部位により、ペプチドやタンパク質とも結合する。	
356	alternative splicing factor ASF	RRM (RNA recognition motif)	1X4C	on_hold		mRNAのオルタナティブスプライシングは発生・分化において重要な役割を果たしている。多くの転写産物がそれぞれの細胞や組織で異なったスプライシングを受けている。本来のスプライシングとオルタナティブスプライシングは、snRNPとnon-snRNPの複合体であるspliceosome上で起こる。本解析ドメインはRNA結合ドメインである。	
357	Matrin 3	RRM (RNA recognition motif)	1X4D	on_hold		Matrin3はnuclear matrixにおける重要なタンパク質のひとつである。Nuclear matrinはnuclear matrix内の重要なタンパク質の一群で、ラミンのものと別である。本解析ドメインはRNAに結合するものと考えられる。Matrin3、細胞骨格のモータータンパク質HMP、サーカディアンリズムを担うタンパク質hLarkはダウン症患者の脳で有意に減少している。解析したドメインの構造はRRMフォールドであった。	
358	RNA binding motif, single-stranded interacting protein 2 (Suppressor of CDC2 with RNA binding motif 3)	RRM (RNA recognition motif)	1X4E	on_hold		SCR3はcdc2の翻訳を誘導することによって、cdc2キナーゼとcdc13サイクリンの変異体を抑制する。本解析ドメインはRNAに結合するドメインで、RRMフォールドをとっていた。	
359	Matrin 3	RRM (RNA recognition motif)	1X4F	on_hold		本解析タンパク質は、核蛋白質の一種であるMatrinの中に現れるRRM foldで、Stuurmanによって発見された。Stuurmanらは、核マトリックス中に存在するタンパク質の一種であるMatrinが、様々な組織由来の培養細胞に存在し、おそらく哺乳類細胞に共通であると示した。解析したドメインはRNA結合ドメインであり、 $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ の典型的なrrm-foldをもつ。	
360	Nucleolysin TIAR (TIA-1 related protein)	RRM (RNA recognition motif)	1X4G	on_hold		全長タンパク質のTIA1, TIARは、RNA結合ドメインを3個とそのC末端にリソゾームのターゲティング配列をもつ。そのため、TIARは、cytotoxic granule-associated proteinであると考えられる。TIARは、poly Aに結合し、造血細胞などで発現が認められる。本解析ドメインはRNA結合ドメインである。	
361	RNA-binding protein 28	RRM (RNA recognition motif)	1X4H	on_hold		全長タンパク質はRNA-binding protein 28で、まだ詳細なことは解っていない。その構造を明らかにする事で、生理的機能の解明などに手がかりを与えるかもしれない。今回解析したのは、RNA結合部位である。おそらく転写後制御に関わっていると考えられる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
362	inhibitor of growth family, member 3 isoform 1 (ING3)	PHD (plant homeodomain) finger	1X4I	on_hold		ING3は、転写因子やクロマチン構造の制御を行うタンパク質を含むplant homeodomain (PHD) fingerファミリーに属する。このタンパク質はTP53と相互作用し、細胞増殖を阻止してアポトーシスを誘導する腫瘍抑制タンパク質・ING1と類似しており、クロマチン再構成に関与しているタンパク質に共通してみられるモチーフのPHD fingerを含む。本タンパク質はp21/wafとbaxを含むp53転写活性化プロモーターに作用することがわかっている。ING3を過剰発現させると細胞増殖が抑制されアポトーシスが誘起される。対立遺伝子の欠損と発現の現象は頭部と頸部のがん細胞で検出されている。いくつかのオルタナティブスプライシング変異体が観察されている。解析したPHD fingerは、クロマチン伸介型転写制御に関わっていると考えられる核内タンパク質で発見される、C4HC3 zinc-finger様モチーフである。このドメインの機能はまだ解っていないが、LIMドメインとの類似していることから、タンパク質間相互作用に関わり転写制御に関わる複合体の会合や活性化に置いて重要である可能性がある。Gunduz et al. (2002)はRT-PCRによって、ING3の発現を抑制すると正常な細胞と比べて50%が初期腫瘍となっていることを示した。舌と喉頭の腫瘍の約63%において、ING3の発現量の減少や死亡率増加の傾向が見られた。本解析ドメインはPHD フォールドをとっていた。	
363	ring finger protein 38 isoform 4 (RNF38 protein)	PHD (plant homeodomain) finger	1X4J	on_hold		RING finger タンパク質ファミリーの新しいタンパク質をエンコードするヒト転写物RNF38の遺伝子構造が解析されたが、ヒト染色体9p12-p13上にあるGNE遺伝子から78kb動原体(セントロメア)寄り位置し、65kb以上にわたって広がる少なくとも13のエキソンで構成されることがわかった。このドメインの機能ははっきりしないが、LIMドメインから類推すると、タンパク質間の相互作用に関わっている可能性もあり、転写の活性化や制御に関わる多分子複合体の形成または活動に重要な役割を果たしているのかもしれない。構造は、RING fingerフォールドであった。	
364	four and a half LIM domains 2 isoform 1 (FHL2)	LIM domain	1X4K	on_hold		DRAL (down-regulated in rhabdomyosarcoma LIM protein) という遺伝子は、32kdの279アミノ酸残基であるポリペプチドをエンコードする。このタンパク質は4つの完全なLIMドメインと後半分だけのLIMドメインをひとつ含んでいる。DRALはLIMのみのクラスに属するメンバーであり、主にLIMドメインから構成されていてそれ以外はほとんどない。DRALは、PS2のエンド型プロテアーゼN端部分にある親水性ループ部分(アミノ酸残基の269-298部分)と相互作用をおこなすが、PS1のループ部分とは相互作用はおこなさない。酵母2-hybrid法およびtruncated FHL2タンパク質の免疫共沈降法を用いることで、2000年にMullerらがFHL2のN端とC端の両方のLIMドメインがFHL2とAR間での相互作用に関わっていることを解析した。LIMドメインは最初、発生上で調節されている3つの転写因子Lin-1, Isl-1, Mec-3として同定された。LIMドメインは約60のアミノ酸残基から構成され、酵母からヒトまでの生物の中で300以上のタンパク質で同定されている。LIMドメインは亜鉛結合し、2つ続けてzinc fingerが並んだシステインリッチなモチーフである。GATAタイプのようなzinc fingerと違い、LIMドメインはDNAとは結合しないように思われるが、その代わりにタンパク質-タンパク質相互作用を仲介する。機能的にLIMドメインを含んでいるタンパク質は、細胞系統の詳細、細胞骨格組織、器官発生を含んだ様々な生物学的過程に関係している。他の同様なLIMドメインを含むタンパク質は、LMOやCRPなどの複合体にコンポーネントをもたらすアダプターとして機能するが、他のLIMドメインを含むタンパク質には、例えば、DNA結合ホモドメインや触媒キナーゼドメインのようなもう一つの機能ドメインといった明らかに別の機能がある。他には、あるLIMドメインは、他のLIMドメインと二量体を形成することがわかっている。全般的に認められたLIMドメイン結合部位というのは、定義されていない。LIMドメインとの相互作用をおこなすような特異性に関する因子は、未だ同定されていない。アルツハイマー病に関係するpresenilin 2は、DRALドメインとLIMドメインに相互作用する。本タンパク質は転写制御因子と考えられているが、rhabdomyosarcoma (癌)の発生に関与していると考えられる。	
365	four and a half LIM domains 2 isoform 1 (FHL2)	LIM domain	1X4L	on_hold		DRAL (down-regulated in rhabdomyosarcoma LIM protein) という遺伝子は、32kdの279アミノ酸残基であるポリペプチドをエンコードする。このタンパク質は4つの完全なLIMドメインと後半分だけのLIMドメインをひとつ含んでいる。DRALはLIMのみのクラスに属するメンバーであり、主にLIMドメインから構成されていてそれ以外はほとんどない。DRALは、PS2のエンド型プロテアーゼN端部分にある親水性ループ部分(アミノ酸残基の269-298部分)と相互作用をおこなすが、PS1のループ部分とは相互作用はおこなさない。酵母2-hybrid法およびtruncated FHL2タンパク質の免疫共沈降法を用いることで、2000年にMullerらがFHL2のN端とC端の両方のLIMドメインがFHL2とAR間での相互作用に関わっていることを解析した。LIMドメインは最初、発生上で調節されている3つの転写因子Lin-1, Isl-1, Mec-3として同定された。LIMドメインは約60のアミノ酸残基から構成され、酵母からヒトまでの生物の中で300以上のタンパク質で同定されている。LIMドメインは亜鉛結合し、2つ続けてzinc fingerが並んだシステインリッチなモチーフである。GATAタイプのようなzinc fingerと違い、LIMドメインはDNAとは結合しないように思われるが、その代わりにタンパク質-タンパク質相互作用を仲介する。機能的にLIMドメインを含んでいるタンパク質は、細胞系統の詳細、細胞骨格組織、器官発生を含んだ様々な生物学的過程に関係している。他の同様なLIMドメインを含むタンパク質は、LMOやCRPなどの複合体にコンポーネントをもたらすアダプターとして機能するが、他のLIMドメインを含むタンパク質には、例えば、DNA結合ホモドメインや触媒キナーゼドメインのようなもう一つの機能ドメインといった明らかに別の機能がある。他には、あるLIMドメインは、他のLIMドメインと二量体を形成することがわかっている。全般的に認められたLIMドメイン結合部位というのは、定義されていない。LIMドメインとの相互作用をおこなすような特異性に関する因子は、未だ同定されていない。アルツハイマー病に関係するpresenilin 2は、DRALドメインとLIMドメインに相互作用する。本タンパク質は転写制御因子と考えられているが、rhabdomyosarcoma (癌)の発生に関与していると考えられる。当該ドメインは、蛋白質間相互作用に関わっていると考えられる。foldingは通常のLIM蛋白質と同じ構造をしている。	
366	Far upstream element binding protein 1 (FUSE binding protein 1) (FBP)	KH domain	1X4M	on_hold		全長タンパク質であるFBPは、FUSEに依存した形で、MYC プロモーターの活性を調節する。さらにFBPの活性は選択スプライシングによって調節を受けている。解析されたのは4つあるKHドメインの4番目で、機能はRNA結合である。本ドメインの構造は、基本的に3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
367	Far upstream element binding protein 1 (FUSE binding protein 1) (FBP)	KH domain	1X4N	on_hold		全長タンパク質であるFBPは、FUSEに依存した形でMYC プロモーターの活性を調節する。さらにFBPの活性は選択スプライシングによって調節を受けている。解析されたのは4つあるKHドメインの3番目で、機能はRNA結合である。本ドメインの構造は、基本的に3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	
368	Splicing factor 4	SURP domain	1X40	on_hold		全長タンパク質はSF4蛋白質とよばれ、スプライシングの制御を行っている。本解析ドメインは、splicing factor 4に含まれる蛋白質間相互作用に関与する。構造は3本のαヘリックスバンドルである。	
369	SFRS14 protein	SURP domain	1X4P	on_hold		全長タンパク質のSFRSは、SURP、G-patch、RSドメインがあることから、SampsonとHewittがpre-mRNAのプロセッシングにおいて働く事を示唆している(2003年)。今回解析したSURPドメインはRNAに結合すると思われ、構造を解析した結果、3本のヘリックスがバンドル状になっていた。	
370	PRP3 pre-mRNA processing factor 3 homolog	PWI domain	1X4Q	on_hold		核内でのpre-mRNAのイントロン除去は、一時的に関与する因子を含めた場合の数は明らかになっていないが4つのsnRNP分子から構成されるスプライオソームと呼ばれる複合体で行われる。PRPF3はU4やU6に関与するタンパク質の一つである。Lauber et al. (1997)とWang et al. (1997)はU4/U6-U5 snRNP三量体にHPRP3が存在することを確認し、U4/U6とより密接に関わっていることを示した。Wang et al. (1997)はE. coliで発現させた組み替えHPRP3が直接、) HeLa細胞核抽出液のHPRP4 (607795)と相互作用することを明らかにした。Gonzalez-Santos et al. (2002)はHPRP3の、N末端やC末端ではなく中心部がHPRP4の結合に必要なと解明した。彼らはHPRP3がU4/U6の会合の際にHPRP4へリクルートするのではないかと仮定した。今回解析したPWIドメインはRNAへの結合が示唆されている。スプライシング因子のPRPF31とPRPF8のヒトでの変異体は色素性網膜炎の原因となり得る。	
371	Parp14 protein	WWE domain	1X4R	on_hold		Parp14蛋白質は、poly (ADP-ribose) polymeraseの一つ考えられている。蛋白質の翻訳後修飾である、poly (ADP-ribose) 化を行う一群の酵素であると考えられる。この仲間は、癌抑制に働くp53の制御などに働くことが知られており、癌細胞の発症のメカニズムを知る上で重要である。当該ドメインは、まだ、機能が分かっていないが、構造解析からユビキチンに似たfoldingをもつが、分子上にポケットの存在が明らかにされ、蛋白質間相互作用に関わっていると考えられる。	
372	Zinc finger HIT domain containing protein 2 (Protein FON)	Zinc finger HIT domain	1X4S	on_hold		今回解析したタンパク質は、癌抑制遺伝子であるMEN1遺伝子群の中に含まれる遺伝子として同定されたC110RF5 (1998年にLemmensらによって同定された) によってcodeされているタンパク質中に存在しているZn結合ドメインである。	
373	putative splicing regulatory factor	DUF (domain of unknown function)	1X4T	on_hold		スプライシングの制御因子と考えられる。構造から、ヘリックスで構成されており、RNA 結合ドメインに結合すると知られている蛋白質に類似している。	
374	FYVE domain containing 27	FYVE domain	1X4U	on_hold		全長343アミノ酸で既知のドメインとして今回解析したFYVEドメインがC末端に予測されている。全長タンパク質に関する機能は、詳細に知られていない。FYVEドメインが存在することから膜タンパク質の一つとしてシグナル伝達に等に関与している可能性は、あるだろう。FYVEドメインは、脂質結合ドメインとして知られている。	
375	hypothetical protein BC018415	zf-AN1 domain	1X4V	on_hold		全長タンパク質は、N末端にzf-AN1ドメインが二つとC末端にLIMドメインを持っている。zf-AN1は、タンパク質相互作用のモジュールの可能性が高いことからシグナル伝達等の機能が考えられる。	
376	Hypothetical protein FLJ13222	zf-AN1 domain	1X4W	on_hold		全長は、227アミノ酸のタンパク質で本研究で解析したzf-AN1ドメインのみが既知のドメインとして予測されている。全長に関する詳しい機能などはまだわかっていない。zf-AN1ドメインに関する機能は、あまり詳しく知られていないがZNF216のzf-AN1は、タンパク質相互作用を担うモジュールであることが示唆されている。亜鉛イオン2個と結合しており、2巻きの短いヘリックスが存在する。本来、短いβシートも存在するが、αヘリックスが存在するためにシートが組み合っていない。亜鉛イオン結合部位は、以下のとおりである。Zn site1: C18, C21, C42, H45 Zn site2: C35, C37, H51, C53	
377	Fibronectin type III domain containing protein 3 (FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	1X4X	on_hold		全長タンパク質FNDC3(Fibronectin type III domain containing protein 3a)はN末端側のPro-rich領域に続いて9個のfibronectin type IIIドメインから成る膜蛋白質である。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b、CHC1L、LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が高い割合で起こることが知られている。解析したドメインは、6番目のFibronectin type III domainである。一般的なfn3ドメインは様々な基質と結合し、フィブロネクチンが創傷治癒、細胞接着、血液凝固、細胞分化などの重要な機能を伴うと考えられている。7本のβストランドからなる典型的なフィブロネクチンフォールドである。	
378	biregional cell adhesion molecule-related/down-regulated by oncogenes (Cdon)binding protein	fn3 (fibronectin type III) domain	1X4Y	on_hold		全長タンパク質はN末端にImmunoglobulin C-2 Typeドメインが4つそのあとにFibronectin type 3 domainが3つ存在する。本研究で解析したものは、C末端側最後のドメインである。このタンパク質は、細胞接着や筋形成に関わっているタンパク質である。Fibronectin type III domainについてどのような機能があるのか詳細にわかっていない。構造タンパクの一つである可能性が今のところ高いと思われる。または、他のタンパク質の結合ターゲットになっている可能性が高い。構造は、7本のβストランドからなる典型的なフィブロネクチンフォールドである。	
379	biregional cell adhesion molecule-related/down-regulated by oncogenes (Cdon)binding protein	fn3 (fibronectin type III) domain	1X4Z	on_hold		全長タンパク質はN末端にImmunoglobulin C-2 Typeドメインが4つそのあとにFibronectin type 3 domainが3つ存在する。本研究で解析したものは、2番目のドメインである。このタンパク質は、細胞接着や筋形成に関わっているタンパク質である。Fibronectin type III domainについてどのような機能があるのか詳細にわかっていない。構造タンパクの一つである可能性が今のところ高いと思われる。または、他のタンパク質の結合ターゲットになっている可能性が高い。構造は、7本のβストランドからなる典型的なフィブロネクチンフォールドである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
380	galectin 4	Gal-bind_lectin domain	1X50	on_hold		全長タンパク質ガレクチン4は、今回解析を行ったGal-bind_lectinドメインをタンデムに二つ持っている。最近の研究より、ガレクチン4は硫酸化糖脂質を結合することが明らかになった。特に今回解析したC末端側のドメインに結合する。本ドメインはガラクトース結合を主な機能としている。全長タンパク質の疾患関連情報としては、正常細胞では大腸正常粘膜に大量に発現しているが、癌細胞組織ではその発現量が減少することが報告されている。14本のβストランドからなるβサンドイッチ構造のタンパク質である。基質相互作用部位は、71-91残基のβシート表面上に存在する。そこには、良く保存されたH71、W91等のアミノ酸が存在する。	
381	MUTYH protein	NUDIX domain	1X51	on_hold		全長タンパク質MUTYH proteinは酸化によるDNAダメージの修復を受け持つ。全長500残基ほどのタンパク質で180-200残基にHhHドメインとC末端に本研究で解析したNUDIXドメインが存在する。解析したドメインは、酸化したDNAや核酸と結合することが知られている。NUDIXドメインの構造上の特性としては、βストランド8本とヘリックス3本からなり、ヘリックスの間に大きなシートが挟まった構造をしていて、N末端側のヘリックスは、NUDIX配列という特別な配列(GX5EX7REUXEEXGU (where U = I, L, or V and X = any amino acid))が存在するが、今回解析したタンパク質は、一部配列が違う。C末端は、ヘリックスターンヘリックス構造の2本のヘリックスが存在する。	
382	Pelota homolog (CGI-17)	eRF1_3 domain	1X52	on_hold		このタンパク質はショウジョウバエではPelO、酵母ではDom34と呼ばれるタンパク質のヒトのホモログである。ショウジョウバエでは細胞周期制御に関わるタンパク質と考えられている。このドメインは配列中央に存在し、翻訳解離因子(RF)の3番目のドメインと配列的・構造的相同性が認められた。解析ドメインは、翻訳解離因子(RF)の相同性から、リボソームに結合することが考えられる。このタンパク質に変異を与えると、精子形成停止、女性の場合は不妊症等を引き起こす。構造は翻訳解離因子(RF)の3番目のドメイン(リボソームに結合に重要)に酷似していた。	
383	AHA1	DUF (domain of unknown function)	1X53	on_hold		AHA1は、真核生物におけるシグナルや調整に重要な役割を担う多くのタンパク質の活性化に必須であるHsp90のATP活性を増加する重要な因子である。AHA1のN-末端、C-末端だけではHsp90のATP活性をそれほど変えないが、最近Hsp90の中心ドメインとAHA1のN-末端ドメインとの複合体が報告されており、C-末端ドメインも補足的にHsp90に結合することで、その特異性とATP活性の上昇に関与していると考えられる。本タンパク質はHsp90と結合するGeldanamycinによってハンチントン病を抑制するとの報告がある。構造はC末端の長いαヘリックスを覆うような5つのストランドからなる逆平行βシート、およびC末のヘリックスとβシートをつなぐ2つの連続したαヘリックスから形成されている。	
384	EDF-1 protein (Endothelial differentiation-related factor 1)	HTH_3	1X57	on_hold		全長タンパク質は内皮細胞の分化を制御するタンパク質である。今回解析したドメインは、典型的なhelix-turn-helixモチーフをもち、特異的にDNAに結合すると考えられる。	
385	Myb DNA binding domain containing protein	myb_DNA-binding domain	1X58	on_hold		全長タンパク質は機能未知であるが、Myb-like DNA bindingであることと、表面電荷を考えるとDNAに結合することが考えられる。構造は、Myb-like DNA binding domainでhelix-turn-helixモチーフをもつ。	
386	Histidyl-tRNA synthetase	WHEP-TRS domain	1X59	on_hold		Histidine tRNAのCCA末端にHistidineを付加する酵素である。本解析ドメインは、二量化に必要なドメインと考えられている。2つのhelixからなる単純な構造をしている。	
387	Ephrin type-A receptor 1	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5A	on_hold		細胞移動や軸索誘導に関与しており、特に神経系の発生を調整していると考えられている。このタンパクのリガンドである膜接着タンパク質ephrinには2つの大きく異なったタイプが存在する。EphAはglycosylphosphatidylinositol (GPI)を経由して膜と結合するType-Aのephrinと特異的に結合すると考えられる。ラットでは肝臓、肺、腎臓、精巣でEphのmRNAの発現がみられ、肝臓ガンや肺ガンでEphのmRNAの過剰発現も報告されている。7つのβストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行βシートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは4つのストランドから形成されている。	
388	STAM2	VHS domain	1X5B	on_hold		全長タンパク質は、リンパ球系細胞において、STAMsがサイトカイン受容体や受容体に会合するシグナル伝達分子の細胞内輸送や分解の制御に関わっている。解析を行っているVHSドメインとその直後にあるUIMドメインでユビキチンおよびユビキチン化されたタンパク質が結合する。T細胞特異的STAM1/2ダブル欠損マウスでは、胸腺でのT細胞の分化障害と末梢T細胞の消失がみられ、SCID発症が確認された。今回明らかになった構造は8本のαヘリックスからなっており、しかもα1、α3、α6、α8とα2、α4、α7の2つの層にα5を介して分けることができる。	
389	iodothyronine 5' monodeiodinase	thioredoxin like domain	1X5C	on_hold		collagen prolyl 4-hydroxylases (C-P4Hs)は触媒サブユニットであるαサブユニット2つとPDIに似たβサブユニット2つで構成される4量体であり、細胞外コラーゲン高分子の合成に必須な酵素である。βサブユニットは不溶性タンパクであるαサブユニットを溶液中で安定に存在させ、凝集を防ぐ役目をしている。今回解析されたドメインの基質結合領域と思われる箇所における変異体は、C-P4Hの活性・凝集を減らす。しかし、別ドメインでの基質結合領域と思われる箇所における変異体の方がその効果はおおきい。多くのPDIはヘテロダイマーなmicrosomal triglyceride transfer protein (MTP)の構成要素の一つである。無βリポタンパク質血症の患者では特異的なより大きな変異体からなるヘテロダイマーが見られる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
390	Protein disulfide-isomerase A6 precursor (Protein disulfide isomerase P5), ERP5	thioredoxin like domain	1X5D	on_hold		Endoplasmic reticulum protein 5 (ERP5)は血小板膜のチオールイソメラーゼ酵素として単離され、アゴニストによって血小板が刺激されるとERP5などイソメラーゼの活性が細胞表面において劇的にあがることが知られている。さらに、このイソメラーゼ活性を阻害すると血小板の接着や凝集、フィブリノーゲン結合、P-セレクチンの露出などを血小板の様々な活性を抑制する。このthioredoxin-like domainはCGHCというredox能を有するモチーフをもっている。このタンパクと結合が報告されている血小板特異的Integrinは血小板減少症や血小板無力症に関与しており、ERP5によってIntegrinのリガンド結合活性を調節することでこれらの疾患を阻害することができるとも考えられる。構造は4本の $\alpha$ -ヘリックスと5本の $\beta$ -ストランドからなるThioredoxin foldである。CGHCモチーフは $\alpha$ 2のN末側に存在する。	
391	thioredoxin-related transmembrane protein	thioredoxin domain	1X5E	on_hold		全長タンパク質TMXは主に小胞体に存在し、過剰発現によって、brefedin Aによる小胞体-ゴルジの融合を阻害し、小胞体の融合から引き起こされるアポトーシスを緩和している。本ドメインは特徴的なCPACという配列をもち、またこの部分が他のthioredoxinと同様レドックス活性をもつことが報告されている。5本の $\alpha$ -ヘリックスと5本の $\beta$ -ストランドからなるThioredoxin foldである。CPACモチーフは $\alpha$ 2のN末側に存在する。C末にエクストラなヘリックスが存在する。	
392	Neogenin	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5F	on_hold		全長タンパク質Neogeninは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているfn3ドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは4つのストランドから形成されている。	
393	Neogenin precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5G	on_hold		このタンパクは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。構造は、7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは4つのストランドから形成されている。	
394	Neogenin precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5H	on_hold		このタンパクは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは4つのストランドから形成されている。	
395	Neogenin precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5I	on_hold		このタンパクは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは7つのストランドから形成されている。	
396	Neogenin precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5J	on_hold		このタンパクは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは7つのストランドから形成されている。	
397	Neogenin precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5K	on_hold		このタンパクは元々癌抑制遺伝子タンパクDCCのホモログとして単離され、乳腺や神経管や体節形成における上皮形態形成に関与していることが知られている。最近、repulsive guidance molecule (RGM)と結合し、視神経の軸索形成を調整することも報告されている。また、neogeninはdependence receptorと呼ばれる新たなアポトーシスのトリガーとしても機能していることも報告されている。今回解析を行っているドメインを含むfibronectin type III repeatの領域でRGMと結合することが報告されている。7つの $\beta$ -ストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行 $\beta$ -シートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは7つのストランドから形成されている。	
398	Ephrin type-A receptor 8 precursor	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5L	on_hold		Eph受容体とそのリガンドephrinはともに膜蛋白質で、哺乳類では14種類のEph受容体と8種類のephrinを持つ。直接接触による細胞間のコミュニケーションや細胞接着の制御をつかさどる大きな蛋白質群である。胚細胞増殖期の組織化されたパターンニングや細胞の移動、神経系の発達、血管系の再構築などに重要な役割を果たす。また、成熟後も組織・腫瘍特異的な発現パターンがみられ臨床的にも注目されている。EphA8蛋白質はephrin-Aファミリーに属する蛋白質で、脳や睾丸という免疫系の支配下からはずれた組織特異的に発現するが、大腸癌細胞では発現が見られる。EphA8はリガンド刺激によりp110 $\gamma$ と複合体形成し細胞接着因子の一つであるインテグリンの活性化を増強する働きをもつ。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
399	siah-interacting protein (SIP)	CS domain	1X5M	on_hold		SIP (Siah-interacting protein)はほとんどCSドメイン単独からなる蛋白質で、アポトーシスカ増殖かという細胞の運命の決定に重要な役割を持っているβカテニンの分解制御を介した新規シグナリング経路に関与している。SIPはubiquitin-conjugating 酵素群 (E2s)と結合するSiah-1をskipl-Cullin-F box (SCF)複合体へリクルートし、βカテニンの分解を促進する。その結果、細胞をアポトーシスへ導く。構造解析を行ったCSドメインはSiah-1 dimerの負電荷を帯びた領域に結合すると考えられている。	
400	Harmonin	PDZ domain	1X5N	on_hold		harmoninは3個のPDZドメインよりなる蛋白質で、1型アッシュー症候群の原因遺伝子のひとつである。内耳の不動毛細胞や網膜の光受容細胞において同じく1型アッシュー症候群の原因遺伝子であるcadherin23 (CD23)と相互作用し不動毛を束ねる働きをする。これにより音や光の信号をニューロンに伝達できるようになる。構造解析されたPDZは2番目のPDZドメインである。PDZ_41の二次構造は6つのβストランドと2つのαヘリックスの8つのセグメントからなる。通常PDZドメインはターゲットとなる膜タンパク質のC末端を認識する。C末端ペプチドはβBストランドとαBヘリックスの間の溝に、βBと逆平行になる位置で結合する。	
401	RNA binding motif, single-stranded interacting protein 1	RRM (RNA recognition motif)	1X5O	on_hold		一本鎖DNA/RNAに結合する蛋白質であり、DNA複製、遺伝子の転写、細胞周期の調節およびアポトーシスで働いていると考えられている。特に、c-myc 遺伝子産物や cdc2, cdc13あるいはHIV-1阻害因子およびILR-2の選択的スプライシングに関与して、異なる活性をもつアイソフォームの形成に関与して、その活性発現制御を行うと考えられる。構造はRRMフォールドである。	
402	Parp14	RRM (RNA recognition motif)	1X5P	on_hold		C4とBF遺伝子の間に存在する遺伝子(組織適合抗原がcodeされている部位)で、housekeeping proteinがコードされていると考えられる。いろいろな種間での保存が高く、重要な役割を果たしていると考えられている。構造はRRMフォールドである。	
403	Scribble isoform b	PDZ domain	1X5Q	on_hold		scribbleは16個のLeucine-rich領域、4個のPDZドメインをもつ膜結合蛋白質である。この蛋白質は上皮細胞や神経芽細胞の極性決定や細胞増殖の抑制等の機能を持つ腫瘍抑制蛋白質である。構造解析されたPDZドメインは1番目のPDZドメインである。二次構造は6本のβストランドと2本のαヘリックスの8つのセグメントから成っていた。通常PDZドメインはターゲットとなる膜タンパク質のC末端を認識する。C末端のペプチドはβBストランドとαBヘリックスの間の溝に、βBと逆平行になる位置で結合する。	
404	Glutamate receptor interacting protein 2	PDZ domain	1X5R	on_hold		シグナル伝達で働く複合体が形成されるための局在箇所での足場としての役割を、また、神経細胞内での特定の位置で、結合する相手となるタンパク質の運搬の仲介をすると思われる。ホモ多量体、ヘテロ多量体を形成する事ができる。GRIP2タンパク質は7個のPDZ/DHRドメインを含み、今回解析したドメインはその4番目である。その正確な機能は、まだ明らかでない。本ドメインの二次構造は6本のβストランドと2本のαヘリックスという8個のセグメントからなる。通常、PDZドメインはターゲットとなる膜タンパク質のC末端を認識する。C末端のペプチドはβBストランドとαBヘリックスの間の溝に、βBと逆平行になる位置で結合する。	
405	Cold-inducible RNA-binding protein	RRM (RNA recognition motif)	1X5S	on_hold		全長タンパク質は、細胞が低温にさらされていると誘導される蛋白質であり、低温でのストレスによる翻訳制御に関わっているのではないかと考えられる。37℃から32℃への温度低下処理の12時間後には、全ての系列の細胞で、CIRBPとそのmRNAの発現量が増していたという実験結果がある。また、マウスでは、睾丸で常に発現されており、精子形成に深い関与があるとの報告もある。男性の無精子症との関連が疑われており、その機能、構造解析が待たれている。解析したドメインはRNA結合ドメインで、典型的なRRMフォールドをとっていた。	
406	Spliceosome associated protein 49 (SAP 49)	RRM (RNA recognition motif)	1X5T	on_hold		スプライシング因子であるU2 snRNPの構成成分であるSAP49蛋白質に存在するRNA結合ドメインである。Farwestern blotの解析から、SF3B4はプロリンリッチ領域よりもRRMを通じてSF3B2 (605591)と直接相互作用している事が解った。Champion ArnaudとReedはSF3B4がmRNA前駆体の、A complexの分岐点付近の29ヌクレオチド領域と架橋すると発見した(1994)。βαββαβの典型的なrrm-foldをもつ。	
407	Spliceosome associated protein 49 (SAP 49)	RRM (RNA recognition motif)	1X5U	on_hold		スプライシング因子であるU2 snRNPの構成成分であるSAP49蛋白質に存在するRNA結合ドメインである。Farwestern blotの解析から、SF3B4はプロリンリッチ領域よりもRRMを通じてSF3B2 (605591)と直接相互作用している事が解った。Champion ArnaudとReedはSF3B4がmRNA前駆体の、A complexの分岐点付近の29ヌクレオチド領域と架橋すると発見した(1994)。βαββαβの典型的なrrm-foldをもつ。	
408	Zinc finger protein 64, isoforms 1 and 2 (Zinc finger protein 338)	C2H2 type zinc-binding domain	1X5W	on_hold		全長はZinc finger protein 64, isoforms 1 and 2であり、9つのC2H2型zinc-binding domainをもつ。このタンパク質は、転写因子であるDrosophila photoreceptor (Zfp64)と高い相同性をもつことから、同様に転写因子であると考えられている。今回解析したドメインは、Zinc finger protein 64, isoforms 1 and 2の7番目のC2H2型zinc-binding domainである。一般的なC2H2型は、ヘリックスがDNAのmajor grooveに結合することが知られている。構造は典型的なC2H2型zinc-bindingドメインである。	
409	Fibronectin type III domain containing protein 3 (FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5X	on_hold		全長タンパク質FNDC3 (Fibronectin type III domain containing protein 3a)はN末端側のPro-rich領域に続いて9個のfibronectin type IIIドメインから成る膜蛋白質である。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b、CHC1L、LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が高い割合で起こることが知られている。今回解析したのはFNDC3の3番目のfn3ドメインである。一般的なfn3ドメインの機能としては、ヘパリン、コラーゲン、DNA、アクチン、フィブリン、フィブロネクチンレセプターなどの様々な基質と結合し、創傷治癒、細胞接着、血液凝固、細胞分化などの重要な生命現象に関与していることが知られている。今回解析したタンパク質の構造は典型的なfn3ドメインであった。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
410	Myosin-binding protein C, fast-type homolog	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5Y	on_hold		全長タンパク質は、Myosin-binding protein C, fast-type homologである。Myosin-binding protein Cは、横紋筋の架橋領域に存在する筋原繊維のタンパク質でβアドレナリンの刺激に応答する。in vitroでは、MHCとF-actin, native thin filamentsに結合し、actin-activated myosin ATPaseの活性を変える。Myosin-binding protein C, fast-type homologは、7つのigC2ドメインと3つのfn3ドメインをもつ。ミオシンは、このタンパク質のC末端側の領域と結合することが報告されている。今回解析したfn3ドメインは、このたんぱく質の2番目のfn3ドメインであり、ミオシン結合領域に含まれる。構造は典型的なfn3ドメインであった。	
411	Protein tyrosine phosphatase, receptor type, D isoform 4 variant	fn3 (fibronectin type III) domain	1X5Z	on_hold		全長タンパク質は、Protein tyrosine phosphatase, receptor type, D isoform 4 variantである。PTPasesは、細胞活性化、増殖、分化の制御において重要な役割をする。PTPases deltaは、3つのigC2ドメインと8つのfn3ドメインからなる。今回解析したfn3ドメインは、このタンパク質の3番目のfn3ドメインである。機能について詳細はまだわかっていないが、一般的なfn3ドメインの機能は、ヘパリン、コラーゲン、DNA、アクチン、フィブリン、フィブロネクチンレセプターなどの様々な基質と結合することが知られている。これは、フィブロネクチンが創傷治癒、細胞接着、血液凝固、細胞分化などの重要な機能を伴うと考えられている。今回解析したfn3ドメインの構造は典型的なfn3ドメインであったことから、機能も一般的なfn3のそれと同様なのではないかと推測できる。	
412	Thyroid receptor interacting protein 6 (TRIP6)	LIM domain	1X61	on_hold		Thyroid receptor interacting protein 6 (TRIP6)は長いProline-rich領域と3個のLIMドメインからなるアダプター蛋白質である。この蛋白質は名前の由来となったThyroid受容体とはligandの有無にかかわらず強い結合はせず、むしろリガンド結合型のRXR受容体やLPA2受容体と結合し、細胞骨格への受容体のターゲティングや細胞の接着、移動に関係していると考えられる。構造解析したLIMドメインは1番目のドメインであり、LPA2受容体との結合に関与している。解析されたLIMドメインは、C2HCとC4タイプの2つのzf-モチーフが一つの蛋白質を構成していた。それぞれのモチーフは逆平行βシートを持ち、C4モチーフのC端部はαヘリックス構造をとっていた。	
413	CLP-36(PDZ and LIM domain protein 1)	LIM domain	1X62	on_hold		CLP-36(PDZ and LIM domain 1)はPDZ、ZASP-likeモチーフ、LIMドメインからなるアダプター蛋白質で、非筋肉細胞において、細胞の極性、形態変化、運動性を制御する機能を持つ。この機能は、N端側のPDZ (ZASP-likeも同様かもしれない)がアクチンストレスファイバーとC端側のLIMがClik1等のkinaseと結合することにより、ストレスファイバー中のミオシンIIを活性化することにより行われる。解析されたLIMドメインはC2HCとC3Hタイプの2つのzf-モチーフが一つの蛋白質を構成していた。それぞれのモチーフは逆平行βシートを持ち、C3HモチーフのC端部はαヘリックス構造をとっていた。	
414	Skeletal muscle LIM-protein 1	LIM domain	1X63	on_hold		Skeletal muscle LIM protein 1はFour-and-a-half LIM proteinとも呼ばれ、4個のLIMドメインとN端側半分LIMドメインからなる蛋白質である。この蛋白質は、骨格筋や心筋で発現が顕著で、拡張型心筋症では顕著な発現低下が見られる。また、細胞内では核やfocal adhesionへの局在がみられ、インテグリンを介した骨格筋の再構築や筋芽細胞の分化に重要な働きをしていると考えられている。構造解析は2番目のLIMドメインに対して行われた。このLIMドメインはそれぞれCCHCとCCCCでZnを配位した2個のモジュールよりなっていた。それぞれのモジュールは主に2本の反平行βシートより構成されていた。また、C末側のモジュールはC端にαヘリックスが付加されていた。	
415	Alpha-actinin_2 associated LIM protein (ALP) PDZ and LIM domain 3	LIM domain	1X64	on_hold		The actinin-associated LIM protein (ALP)はN末端にPDZドメイン、C末端にLIMドメインを有するタンパク質ファミリーの原型である。これらPDZ-LIMタンパク質は筋肉の細胞骨格を形成し、PDZドメインによるspectrinのようなαアクチンの繰り返しと相互作用をおこなうため、Z lineに沿って出現する。PDZドメインとLIMドメインは、通常は細胞シグナル伝達を介するタンパク質に見受けられるため、PDZ-LIMタンパク質は筋肉の発達に関与していると思われる。ALP遺伝子は、顔面肩甲上腕型の筋ジストロフィーにおいてはALPに関する役割を示唆している、この疾患に関係する変異をおこした異色染色質領域の近傍にある4q35で発生する。	
416	cold-shock protein	'Cold-shock' DNA-binding domain	1X65	on_hold		全長タンパク質は、一本鎖核酸への高親和性をもつ。本解析ドメインであるコールドショックドメイン (CSD) の生物学的機能は未だ不確かであるが、RNAシャペロンを介して翻訳を制御することによって機能する。コールドショックタンパク質の合成速度は何倍にも増加するが、それに半反して、大抵のタンパク質の場合には、通常の生理的温度よりもはるかに低い温度で、合成速度が著しく低下する(コールドショック)。構造は、5本のβストランドがバレルを形成している。	
417	Human friend leukemia integration 1 transcription factor	SAM (Sterile alpha motif) domain	1X66	on_hold		全長タンパク質はヒトフレンド白血病転写因子1である。通常のSAMドメインはタンパク質のN末端ないしはC末端に位置して、そのタンパク質を二量化する役目を果たすが、このSAMドメインはタンパク質の中間部分にあるため、他の機能を果たす可能性がある。このSAMドメインも二量化の機能を果たすのであれば、このドメインのN末端ないしはC末端がその機能に重要であろう。	
418	HIP-55 (drebrin-like protein)	cofilin-ADF (actin-depolymerization factor)	1X67	on_hold		SH3P7とも呼ばれるHIP-55とmApp1は、Cofilinと相同性の高いドメインをN末端側に、SH3ドメインをC末端側に持つ。HIP-55はリンパ球の情報伝達に重要な役割を果たすHPK-1とc-Jun N末端キナーゼ (JNK) を活性化する。T細胞の活性化は、免疫系の適切な調節に重要な過程である。Cofilinと相同性の高いこのドメインは、アクチンフィラメントと特異的に結合するが、アクチン単体とは結合しないことが解っている。	
419	FHL5 protein (Activator of cAMP-responsive element modulator (CREM) in testis)	LIM domain	1X68	on_hold		全長はactin結合タンパク質でFHL (four-and-a-half LIM protein) familyの一つである。柱細胞の制御に働くと考えられている。解析ドメインは典型的なLIM domainなのでタンパク質に結合すると考えられている。	
420	Cortactin	SH3 domain	1X69	on_hold		Cortactinは、Arp2/3複合体を活性化することによりcytoskeletal dynamicsを制御する、繊維アクチン(F-アクチン)結合タンパク質であり、N末端にある6つのcortactinリピートによってF-アクチンに結合する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
421	LIM domain kinase 2	LIM domain	1X6A	on_hold		cofilin (actin depolymerizing factor)を脱リン酸化して、不活性化し、アクチン細胞骨格の再構成を引き起こす。Zn-binding domainであり、典型的なLIM_domainであることから、本解析ドメインの機能はタンパク質結合と考えられる。	
422	Rho guanine exchange factor (GEF) 16	SH3 domain	1X6B	on_hold		Rhoは、GDPからGTPへの形成を促進するGEF(guanine exchange factor)の働きを持ち細胞の成長を制御する重要なタンパク質である。	
423	SHP1	SH2 domain	1X6C	on_hold		SHP1は、protein tyrosine phosphataseであり、真核生物の細胞シグナル伝達をマイナスに制御する。SHP1にはN末端側に2つのSH2を持っており、今回解析したのは2つ目のSH2ドメインである。4つのβストランドからなるβシートをはさみ形でαヘリックスが2つ存在し、それぞれの間で疎水性コアを形作っている。コアを作る残基はSH2で保存性が高く、このタンパク質においてもよく保存されている。β3の外側にペプチド結合部位があり、β3にあるHis64とβ1にあるArg34の側鎖と相互作用する。これらの残基はよく保存されており、特にArg34はSH2では100%保存されている。	
424	interleukin 16	PDZ domain	1X6D	on_hold		インターロイキン-16は、T細胞の活性制御としての化学誘引物質の機能や、免疫不全ウイルスの複製を阻害する機能も知られている。	
425	Zinc finger protein 24	C2H2 type zinc-binding domain	1X6E	on_hold		zinc fingerタンパク質遺伝子であるZNF24 (KOX17、ZNF191)はクロモソームに局在している。Kruppel-like zinc fingerファミリーであり、N末端側に典型的な転写調節モチーフであるSCAN boxがあり、C末端側に連続した4つのKruppel-like zinc fingerドメインがある。C2H2タイプのzinc fingerドメインに高く保存されたアミノ酸配列、TGEKPYXがあり、DNA結合能があると示唆される。	
426	Zinc finger protein 462	C2H2 type zinc-binding domain	1X6F	on_hold		全長タンパク質Zinc finger protein 462の生物学的意義は今まで解明されていなかったが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。今回構造解析を行ったドメインはC2H2タイプのzinc fingerドメインであることが明らかとなったため、DNA結合に関与すると推測される。	
427	Tyrosine-protein kinase CTK	SH3 domain	1X6G	on_hold		Chk tyrosine kinase はSrc-family tyrosine kinasesをリン酸化し、そのキナーゼ活性を抑制する。ChkはN末端のユニークなドメインと、特異的なproline-rich配列に結合するSH3ドメインと、Tyrリン酸化の特異的領域と結合するSH2ドメインと、Pro-Tyrキナーゼドメインからなる。	
428	Transcriptional repressor CTCF	C2H2 type zinc-binding domain	1X6H	on_hold		CTCFはchromatin insulatorタンパク質であり、母系のH19 ICR(imprinting control region)対立遺伝子と優先的に相互作用する唯一の因子であることが知られている。今回構造解析を行ったドメインはC2H2タイプのzinc fingerドメインであることが明らかとなったため、DNA結合に関与すると推測される。	
429	E1B-55kDa-associated protein 5, isoform c.	SAP domain	1ZRJ	on_hold		E1B-55kDa-associated protein 5 は配列解析の結果からヘテロ核リボタンパク質に類似していることから、公式遺伝子名としては heterogeneous nuclear ribonucleoprotein U-like 1とされている。E1B-55kDa-associated protein 5 は poly (G) RNAと ssDNAに結合することが分かっており、グアニンが結合するのに必要である、リン酸結合モチーフとマグネシウム結合モチーフが中央に位置している。SAP (after SAF-A/B, Acinus and PIAS) domainは多種の核タンパク質で見られ、DNA結合に関与していると言われている。またほとんどのタンパク質においてSAP domainはタンパク質のN末端かC末端に存在していることから核酸の代謝に関わる機能を持つ可能性があるとして推測されている。アデノウイルス DNA 複製と核-細胞質間 RNA 輸送は early-1B-55kD protein (E1B-55) によって調節されている。ウイルスの感染後期の間、細胞のRNAの多くは細胞質に蓄積されタンパク合成がストップしてしまう。それに対して後期ウイルスRNAはタンパク質に転写される為に細胞質に輸送される。本タンパク質はこのE1B-55と相互作用することが知られており、また、E1B-55kDa-associated protein 5の安定発現は後期ウイルス転写産物のエクスポートを刺激し、核のmRNA輸送の活動を止めさせる。つまり、E1B-55kDa-associated protein 5はRNA輸送に関わっていて、その機能はアデノウイルスに感染した細胞中で E1B-55 によって調節されているのかもしれない。3本のαヘリックス(1本は310ヘリックス)で形成されたコンパクトなαヘリカルなフォールドであった。	
430	NEDD9 interacting protein with calponin homology and LIM domains	LIM domain	2C08	on_hold		解析対象のタンパク質、MICALは118kDのタンパク質で、胸腺、肺、脾臓、腎臓、精巣、造血細胞で発現する。このタンパク質にはカルボニンホモロジドドメイン、LIMドメイン、ロイシンジッパーモチーフ、プロリンリッチ配列がある。MICALはこのプロリンリッチ配列を通してCasLと結合する。今回構造解析を行ったLIMドメインはMICALの中央の領域に位置する。LIMドメインの多くは細胞質や核タンパク質で見られており、タンパク質-タンパク質相互作用に重要であると予想されている。	
431	Thymus high mobility group box protein TOX	HMG (high mobility group) box	2C09	on_hold		マウスのTox遺伝子は、DNAと結合するHMG box familyのタンパクをコードする。胸腺において、pre-T細胞受容体(pre-TCR)、そしてTCRを介した信号が遺伝子発現変化を引き起こし、CD4とCD8系統T細胞の成熟を促進する。TOX発現は、未熟胸腺細胞のpre-TCRとTCRの活性化によりup-regulateされる。TOX発現のトランスジェニックマウスにおいて、CD8+ populationの増加およびCD4+ populationの減少が見られた。この表現型は、TCRを介した信号へのsensitivityが低くなることにより、lineage commitment perturbationによると思われる。このthymic selection eventの分子マーカーは、T細胞発生および遺伝子発現のパターン変化のactivation thresholdの構築に重要だと思われる。HMG boxタンパクは、DNA結合タンパクとして知られており、sequence-specific and non-sequence-specific結合の二種類に分類できる。今回解析したのはnon-sequence-specificにDNAと結合するHMG_boxタンパクであり、T細胞発生を調節に関わると思われる。構造は三本ヘリックスからなるHMG_boxドメインフォールドを取っており、分子全体がL型の形をしている。分子全体がL型を取っており、L型の凹面においてDNAと結合すると思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
432	Protein kinase C, D2 type	PH (pleckstrin homology) domain	2COA	on_hold		Protein kinase C, D2 type (PKD2)は新規のserine threonine protein kinaseであり、二つのcystine-rich domain(CRD)、一つのPHドメインと一つのキナーゼドメインからなる。PKD2のmRNAは、ヒトやマウスの各組織に広く発現する。PKD2はphorbol esterおよび成長因子によって活性化されることが知られており、phorbol esterおよびCCKB/gastrin receptorが関与する信号伝達に関わると思われる。近年、PKD2はchronic myeloid leukemia cellに発現するPKD familyのmajor isoformであり、PKD2のPHドメインのtyrosine残基がBcr-Ablによってリン酸化されたことが報告され、PKD2 tyrosine phosphorylation targetingは、Bcr-Abl+ myeloid leukemiaの治療につながると思われる。PKD2は、Bcr-Abl tyrosine kinaseの新規substrateとして知られている。PH_20にあたるPKD2に含むPHドメインは、Bcr-AblによってPHドメインのtyrosine 438残基がリン酸化されたことが報告され、PKD2 tyrosine phosphorylation targetingは、Bcr-Abl+ myeloid leukemiaの治療につながると思われる。PKD2はchronic myeloid leukemia cellに発現するPKD familyのmajor isoformであり、PKD2のPHドメインのtyrosine 438残基がBcr-Ablによってリン酸化されたことが報告され、PKD2 tyrosine phosphorylation targetingは、Bcr-Abl+ myeloid leukemiaの治療につながると思われる。PHドメインフォールドをとっているが、β7とC端ヘリックスの間に長めのループを持つ。β3-β4間のループ周辺において、塩基性残基が集中しており、脂質の結合サイトである可能性がある。	
433	LCoR protein	HTH (helix-turn-helix) domain	2COB	on_hold		全長タンパク質はエストロゲン受容体αに結合する基質結合依存性の転写抑制因子である。ヒストン脱アセチル化酵素、転写抑制因子複合体CtBPとも結合する転写抑制因子である。解析したドメインは、DNA結合活性が予想される。	
434	FGD3 protein	PH (pleckstrin homology) domain	2COC	on_hold		FYVE, RhoGEF and PH domain containing protein 3 (FGD3)タンパク質は、一つのRhoGEFドメイン、一つのFYVEドメインと二つのPHドメインからなり、FGD1 familyの新規メンバーである。fgd1遺伝子は線維芽細胞を刺激し、糸状仮足を形成する。fgd1の転写物が多様な組織および胚形成時に現れることから、胚の発生に関わると思われる。今回解析したドメインは、FYVE, RhoGEF and PH domain containing protein 3 (FGD3)タンパク質の二つのPHドメインの内、C端のPHドメインに相当する。PHドメインは一般的に脂質結合ドメインとして知られている。しかし、本解析ドメインには、結合サイトと思われるところに塩基性残基が少ないため、脂質結合以外の機能も考えられる。Fgd1遺伝子変異は、faciogenital dysplasia (FGDY, 別名Aarskog syndrome)を引き起こす。faciogenital dysplasiaは、一種のX染色体起因性の発達障害であり、骨格構造の異常が見られる。Fgd3遺伝子はfaciogenital dysplasiaの新規のジーンホモログである。構造は、典型的なPHドメインフォールドをとっている。β5とC端ヘリックス間に、疎水性ポケットが見られる。脂質結合に関して、脂質結合サイトと思われるところに、塩基性残基が少ないため、脂質結合の可能性が低いと思われる。	
435	ARAP2	PH (pleckstrin homology) domain	2COD	on_hold		ARAP2タンパク質は、一つのSAMドメイン、ArfGAPドメイン、RhoGAPドメイン、RHDドメインと、五つのPHドメインからなっている。ARAP2の発現は組織ごとに異なり、脳、胸腺、脾臓、腎臓などに多いことがわかる。ARAP2はマルチシグナルの潜在的なターゲットとして、GTP結合タンパク質の活性に影響し、アクチンや膜の再構築に関わると思われる。今回解析したPHドメインは、ARAP2の五つのPHドメインの内、N端から一番目のPHドメインにあたる。ホスホイノシチドに結合するドメインとして、ホスホイノシチド介在の信号伝達に関わると思われる。典型的なPHドメインフォールドをとっている。β1-β2ループとβ3-β4ループにおいて、塩基性残基が集中しており、PIPに結合する可能性があると思われる。	
436	DNA nucleotidylexotransferase (TdT)	BRCT (BRCA1 Carboxyl Terminus) domain	2COE	on_hold		DNA nucleotidylexotransferase (TdT)はBRCTとPOLXドメインよりなるテンプレート非依存型DNAポリメラーゼである。この酵素は3'端にランダムにヌクレオチドを付加する働きがあり、生体中ではB細胞やT細胞の成熟の際、IgやT細胞受容体の再編成時にジャンクション部分にヌクレオチドを付加し結合部位の多様性に寄与していることが知られている。この蛋白質はある種の急性白血病で非常に高い発現が見られる。解析されたBRCTドメインは3本のヘリックスと4本の平行βストランドからなるが、XRCC1のBRCTドメインとは2つ目のヘリックスの角度が異なっている。	
437	KIAA1914 isoform 2	PH (pleckstrin homology) domain	2COF	on_hold		Hypothetical protein KIAA1914は、二つのPHドメインから構成される。機能未知なタンパク質であるが、ドメイン構成において、actin filament associated protein (AFAP)とホモロジーを持つ。AFAPはactin filament integrityを調節するアダプタータンパク質として知られている。PH_18は、Hypothetical protein KIAA1914タンパク質に含むC端のPHドメインにあたる。詳細な機能はまだ報告されていないが、PHドメインとして、脂質結合に関わる可能性があると思われる。構造は、典型的なPHドメインフォールドをとっている。β3-β4間のループ周辺において、塩基性残基が集中しており、脂質結合サイトである可能性が高い。	
438	poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)	BRCT (BRCA1 Carboxyl Terminus) domain	2COK	on_hold		poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)は損傷したDNAの修復に関わる酵素のひとつ。活性部位の相同性から8種類のサブクラスが報告されており、本タンパク質はZinc-fingerを持つPARP-1である。PARP-1はDNAの損傷を感知しN末端の2つのZinc Finger部位によりDNAに結合する。また、C末端側のCatalytic Domainが、核内タンパク質 (Histone、いくつかの転写因子、DNA修復因子、NF-κB、AP-2、Oct-1、YY1、p53、Topoisomerase I、Lamin B、B23など) をポリADPリボシル化する。ADPリボシル基は数十個から200個程度にまで重合し、ポリADPリボシル化したタンパク質は電荷が変化して機能を大幅に抑制される。逆に、poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG)とADP-ribosyl protein lyaseの二つのタンパク質がポリADPリボシルの分解を行う。例えばHistoneがポリADPリボシル化した場合、DNAとHistoneが分離しクロマチンの再構成、DNA修復、転写の制限が起こる。このようなメカニズムによりPARP-1は次のような機能を持っていると報告されている。1. DNA修復 2. 転写レベルでのさまざまなタンパク質の発現抑制 3. 複製と分化の抑制 (p53, YY1, AP-2などの機能制御) 4. テロメラーゼ活性の抑制 5. ネクロシスによる細胞死の促進。解析を行ったBRCTドメインはDNA修復酵素や細胞周期のregulatorに多く存在し、タンパク質間相互作用に重要な役割を果たしている。BRCTドメイン同士でheterodimerを作ることが報告されている。構造解析の結果、heterodimerを作る部分の構造は保存されており、反対側の部分が他のBRCT domainと異なることがわかった。この部分はタンパク質間相互作用部位との報告もあり、BRCT domainごとにターゲットタンパク質が異なるためと思われる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
439	Lysine-specific histone demethylase 1	SWIRM domain	2COM	on_hold		約20種のポリペプチドから構成される核内転写抑制複合体CtBPのサブユニットで、その一次構造からポリアミノオキシダーゼ活性を持つと予測される。解析したドメインは真核生物ゲノムDNAのクロマチン構造変換に関わるタンパク質群に含まれるドメインで、タンパク質-タンパク質相互作用に関わると予測される。構造的には、SWIRMドメインは6本の $\alpha$ ヘリックスから構成される新規フォールドであった。基質ポケットおよび他のタンパク質との結合様式は見い出せていない。SWIRMドメインは2002年に命名された新規のドメインであるが、その構造はこれまで発表されておらず、オリジナリティの高いドメインと位置づけられる。	
440	Predicted Rossmann fold nucleotide-binding protein	LIM domain	2CON	on_hold		Nob1p (for "Nin one binding protein")は最初Nin1p/Rpn12pおよび酵母の26Sプロテオソームの19S調節粒子のサブユニットと相互作用するプロテオソーム生物発生に必須であるものとして報告された。Nob1-TAPの免疫沈降ではNin1pとの相互作用は検出できなかったが、Nob1pはputative pre-40S complexesと同時に精製された。Nob1pの配列上の特徴としてRNAase活性に関連したモチーフであるRNA-結合ドメインをC末に、PINドメインをN末に進化的に保存していることから、このタンパク質は18S rRNA 3' endonucleaseである可能性が示唆され、リボソーム合成にかかわると考えられる。Nob1pはまさにpre-40Sリボソーム粒子の構成要素であり、20S pre-rRNAの分解により成熟した18S rRNAを生み出すことが知られている。解析ドメイン特有の機能は確立されていないが、DNAやタンパク質との結合interfaceとしての機能が考えられている。このドメインのアミノ酸配列をBLASTのConserved Domain Databaseで検索すると、KOG2463, Predicted RNA-binding protein Nob1p involved in 26S proteasome assembly [Posttranslational modification, protein turnover, chaperones]がヒットしており、このドメインと相同性のある6種のタンパク質(計7種)でCysの位置が完全に保存されている。これら6種のタンパク質はいずれも構造未知である。このドメインには、Zn <sup>+</sup> イオンをキレートすると考えられる部分構造にCys4個とHis1個が存在し、どれとどれがキレートに関与しているかが不明で少なくとも2~3通りが考えられるが、Cysの位置の保存性からおそらくCYSのみが関与していると考えて構造計算を進めている。同時に、考えられるキレートパターンすべてについてCYANA2で計算を行い、4 CYSのみのキレートパターンに矛盾がないことを確認しておく必要もあるかと考えている。現在KOG2463またはNob1pと金属イオンの関連に関して調査中である。	
441	dihydrolipoamide branched chaintransacylase	e3_binding domain	2C00	on_hold		dihydrolipoamide branched chain transacylaseはBiotin_lipoyl, e3_binding, 2-oxoacid_dhドメインから成る酵素である。この酵素は、ビルビン酸デヒドロゲナーゼ酵素複合体(E1, E2, E3)の内のE2の一部分(E2b)であり、分枝鎖転移酵素として働く一方、e3_bindingドメインを介してE1と大きく結合したE3複合体と結合し、酵素複合体を正しく配置する役割を持つ。構造解析を行ったe3_bindingドメインは短い310ヘリックスをはさんで2本のヘリックスが平行に配置した構造を取っている。複合体の結晶構造中のe3_bindingドメインとの比較では、両者はループの先までほとんど同じ構造を取っていることが明らかとなった。メーブルシロップ症の原因遺伝子である。	
442	Acyl CoA binding protein	Acyl-Coenzyme A binding domain	2COP	on_hold		アシルCoA (アシル補酵素A) は、脂肪酸合成や脂質代謝の重要な中間産物であり、中間代謝と遺伝子発現を調節する役割を担っている。アシルCoA 結合タンパク質であるACBPは細胞内のアシルCoA輸送と貯蔵に働いていると考えられている。ACBPは真核生物では大きなグループを形成しており、細胞特異的なアイソフォームもいくつか知られている。CoAとチオエステル結合した長鎖脂肪酸部分をACBPは1対1の結合様式・高選択性・高親和性を持って取り込む。構造上の特性は4個の長いアルファヘリックスの束であり、それぞれ次の通りである。ヘリックスA: 9-19残基。ヘリックスB: 28-42残基。ヘリックスC: 56-66残基。ヘリックスD: 73-87残基。	
443	PINCH protein (Particularly interesting new Cys-His protein)	LIM domain	2COR	on_hold		PINCH 1は、タンパク質-タンパク質相互作用を仲介する5つのLIMドメインが縦に並んだタンパク質ファミリーである。PINCH 1とintegrin-linked kinaseは、次の継代に続いているprompt HeLa cell spreadingおよび運動性に必須であり、また細胞生存に重要なものである。ILKの減少がser473でのAKTリン酸化を減少させたが、PINCH 1の減少はser473とthr308の双方においてAKTリン酸化を減少させた。PINCH 1は、ILKタンパク質レベルもまた制御していた。PINCH 1はILKの絶対的なパートナーであり、両方もが細胞の形状変化、運動性、生存の適切なコントロールに欠かせない。LIM17はPINCH 1の3番目のドメインである。フォールディングトポロジーには、CCHHやCCCCといった両方の独立した亜結合モジュールがある。各々のモジュールは二つの逆平行 $\beta$ シートから構成されていて、CCCCモジュールの末端には $\alpha$ ヘリックスがある。	
444	Serine/threonine protein kinase LATS2 (Large tumor suppressor homolog 2)	UBA (Ubiquitin associated) domain	2COS	on_hold		ショウジョウバエの腫瘍抑制遺伝子の哺乳類におけるホモログタンパク質。胚の発生、増殖制御、遺伝子の整合性に必須。ユビキチン運搬タンパク質(E2)、ユビキチン連結酵素(E3)、ユビキチンC末加水分解酵素(UBPs)がユビキチンに結合する部位。癌抑制遺伝子p53やNF- $\kappa$ Bの分解に関わっている。細胞周期関連因子、シグナル伝達因子、転写因子の制御に関わる。家族性パーキンソン病にも関与。3本の $\alpha$ ヘリックスからなる。これまで知られているUBAドメインと同様の構造である。	
445	Zinc finger protein 435	zf-C2H2 domain	2COT	on_hold		Zinc finger protein 435はSCANと4個のzf-C2H2ドメインから成る蛋白質で、主に喉頭部において発現されている。構造解析されたドメインは第一、第二zf-C2H2ドメインであり、2つのドメインは疎水領域を介してひとつの蛋白質を形成している。蛋白質中央部に正の電荷を帯びた溝があり、DNA結合に関与するものと考えられる。また、SCANドメインは2量体ドメインとして知られているので、転写制御に関係した機能を持つと考えられる。	
446	Ect2 protein	BRCT (BRCA1 Carboxyl Terminus) domain	2COU	on_hold		ECT2はRho GTPaseに対するGEFであり、細胞分裂のM期において活性化し、細胞分裂をコントロールする重要なタンパク質である。BRCTドメインのホモ二量体、およびヘテロ二量体の報告が多い。一方で、タンパク結合も可能である。BRCTドメインは核内タンパク質の多くに見られ、このような機能によってそれぞれのタンパク質の活性をコントロールしている。ECT2の2番目のBRCT domainはECT2の機能抑制をしていることが報告されている。Rho GTPaseを介した悪性腫瘍に関係している。構造は典型的BRCTドメインであった。2本helixとは反対側の結合部位には二次構造がない。BRCTの結合の多様性を反映していると思われる。2本helix(alpha1とalpha3)には他のBRCT domainが結合できると思われる。一方で、human ECT2ではタンデムに並んだBRCTのうち2番目がECT2の機能活性を制御している結果が報告されている。シークエンスアライメントの結果から、今回構造解析したドメインはヒトで重要とされている2番目に相当する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
447	Kinesin-like protein KIF13B	CAP-Gly domain	2C0W	on_hold		全長タンパク質はkinesin superfamilyに属するモータータンパク質と予想される。解析したドメインは微小管に結合する。本ドメインは、5本のbeta-strandが逆平行にならびバレル状の構造を中心に持つ。	
448	Dynactin1	CAP-Gly domain	2COY	on_hold		Dynactin1に含まれるCAP-Glyドメインである。Dynactin1は細胞内で微小管上を用いた物質輸送系であるダイニン輸送系の構成因子である。この輸送系においてダイニンとともにこのCAP-Glyドメインが微小管に結合していると考えられている。5本のbeta-strandが逆平行にならびバレル状の構造を中心に持つ。	
449	CAP350	CAP-Gly domain	2COZ	on_hold		centrosome associated protein 350 (CAP350)に含まれるCAP-Glyドメイン。CAP350は2次構造予測やアミノ酸配列からのドメイン検索ではヘリックスリッチなミオシン様の構造を持っていると予想されるので、微小管形成中心で微小管に結合し細胞内輸送系などに関与していると考えられる。このドメインの機能は微小管結合と考えられている。5本のβ strandが逆平行にならびバレル状の構造を中心に持つ。	
450	CLIPR-59 protein	CAP-Gly domain	2CP0	on_hold		CLIPR59は、2つのCAP-GlyドメインとAnkyrinリピート構造からなる。論文情報では trans-Golgi/TGNに局在し(CLIPR-59, a new trans-Golgi/TGN cytoplasmic linker protein belonging to the CLIP-170 family. J Cell Biol. 2002 Feb 18;156(4):631-42) lipid raftに結合する(CLIPR-59 is a lipid raft-associated protein containing a cytoskeleton-associated protein glycine-rich domain (CAP-Gly) that perturbs microtubule dynamics. J Biol Chem. 2004 Sep 24;279(39):41168-78.)。また、学会(2003年度、2004年度の日本分子生物学会)では、Y2HでDR6に結合することが報告されている。今回解析したドメインは微小管結合 DR6に結合する。5本のbeta-strandが逆平行にならびバレル状の構造を中心に持つ。	
451	CLIP-115	CAP-Gly domain	2CP2	on_hold		全長タンパク質はもともとは脳特異的に発現しているCytoplasmic linker protein (CLIP)として同定されてきた。本ドメインは2つあるCAP-Glyドメインの1番目で、微小管に結合する。2万人に1人の割合で発症するWilliams Syndromeの原因遺伝子の一つである。この疾患は心血管系異常、そけいヘルニア、皮膚弛緩、妖精様顔貌、特異的行動・性格、発達延滞、運動発達の遅れなどの特徴を持つ。構造上の特性としては、CAP_Glyドメインの特徴である5本のanti-parallel β sheetがバレル状になった構造を持つ。	
452	CLIP-115	CAP-Gly domain	2CP3	on_hold		全長タンパク質はもともとは脳特異的に発現しているCytoplasmic linker protein (CLIP)として同定されてきた。本ドメインは2つあるCAP-Glyドメインの1番目で、微小管に結合する。2万人に1人の割合で発症するWilliams Syndromeの原因遺伝子の一つである。この疾患は心血管系異常、そけいヘルニア、皮膚弛緩、妖精様顔貌、特異的行動・性格、発達延滞、運動発達の遅れなどの特徴を持つ。構造上の特性としては、CAP_Glyドメインの特徴である5本のanti-parallel β sheetがバレル状になった構造を持つ。	
453	CLIP-170	CAP-Gly domain	2CP5	on_hold		CLIP-170は、EB1、APCなどと共に微小管の+端に結合するタンパク質群(+TIPs)の一つである。微小管伸長反応を伴う細胞走化の際に、細胞極性を規定することとも関わるIQGAPを介して、ベータカテニン、カドヘリンといった細胞接着に関わる因子の細胞内領域に間接的に結合する。すなわち、細胞接着分子と微小管をつなぐ働きが想定されている。また、ダイニン輸送系が微小管+端にエントリーする際に関わることも報告されている。微小管に結合する。また分子内のC末端領域の金属結合ドメインと相互作用することも報告されている。5本のbeta-strandがantiparallelにならびbarrel状の構造を中心に持つ。	
454	CLIP-170	CAP-Gly domain	2CP6	on_hold		CLIP-170は、EB1、APCなどと共に微小管の+端に結合するタンパク質群(+TIPs)の一つである。微小管伸長反応を伴う細胞走化の際に、細胞極性を規定することとも関わるIQGAPを介して、ベータカテニン、カドヘリンといった細胞接着に関わる因子の細胞内領域に間接的に結合する。すなわち、細胞接着分子と微小管をつなぐ働きが想定されている。また、ダイニン輸送系が微小管+端にエントリーする際に関わることも報告されている。微小管に結合する。また分子内のC末端領域の金属結合ドメインと相互作用することも報告されている。	
455	CAP-Gly10		2CP7			細胞骨格ダイナミクスとシグナル伝達をはじめとしたさまざまな生体内反応につながっていると考えられている。	
456	KIAA0049 protein	UBA (Ubiquitin associated) domain	2CP8	on_hold		KIAA0049 proteinのN末端領域に、PBIドメイン、Zn binding domainが、C末端領域にUBAドメインが存在している。本タンパク質の3-969残基は、卵巣腫瘍抗原protein(neighbor of BRCA1 gene 1)と一致している。このことから本タンパク質も腫瘍抗原である可能性が考えられる。本UBAドメインは、ヒト由来全長969残基のKIAA0049 proteinのC末端部分に位置する。KIAA0049 proteinのN末端領域には、PBIドメイン、Zn binding domainが存在している。UBAドメインは、もともとユビキチンに関連した酵素/タンパク質に多く見出されていた配列モチーフあり、UBAドメインは、タンパク質間相互作用ドメインとして機能していることが分かってきている。UBAドメインの機能として、ユビキチンへの結合、プロテアソームへの誘導の他、DNA修復などにも関わっていることが知られている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
457	Elongation factor Ts, mitochondrial precursor (EF-Ts)	UBA (Ubiquitin associated) domain	2CP9	on_hold		翻訳に関わるタンパク質である。リボソーム上でmRNAを鋳型にタンパク質が合成される翻訳過程は開始、伸長、終結の3つに分けられる。伸長反応は、リボソーム上でtRNAからアミノ酸がmRNAの情報に従ってつながって行く。この伸長反応ではtRNAはタンパク質とGTPと複合体を形成し、このGTPは反応中、加水分解されGDPとなる。このGDPをGTPへ交換する反応を触媒するのが本タンパク質EF-Tsである。本タンパク質はいくつかのドメインから構成され、これらのドメインの立体構造解析を行うことによって、基本的な生命現象である翻訳機構の詳細を知るための重要な情報を与える。今回の標的ドメインは、本タンパク質中N末端側に位置している。UBAドメインは、ユビキチンに関連した酵素/タンパク質に多く見出されていた配列モチーフあり、タンパク質間相互作用ドメインとして機能していることが分かっている。ユビキチンへの結合、プロテアソームへの誘導の他、DNA修復などにも関わっていることが知られている。本ドメインもこれらの機能を有することが考えられる。典型的なUBAドメインのfoldを有する。すなわち3本の $\alpha$ -helixからなり、3本でNの字に似た位置関係を有する。今回の構造解析の結果から、本UBAドメインも他のUBAドメインと同様の機能、及び、ユビキチンとの結合様式を取る可能性を示唆することができる。N末側の最初のhelixが相互作用相手のEF-Tu proteinとの複合体面となっていることが、homologタンパク質から明らかである。本タンパク質も構造解析の結果、類似の構造を有していることから、同じような相互作用をすると考えられる。構造は、典型的なUBAドメインのfoldを有する。すなわち3本の $\alpha$ -helixからなり、3本でNの字に似た位置関係を有する。今回の構造解析の結果から、本UBAドメインも他のUBAドメインと同様の機能、及び、ユビキチンとの結合様式を取る可能性を示唆することができる。	
458	KIAA0657 protein	immunoglobulin like domain	2CPC	on_hold		免疫グロブリンスーパーファミリーのタンパク質は機能の異なる何百ものタンパク質から見出されている。例えば、抗体、筋組織に存在する巨大な分子量のキナーゼであるtitin、受容体型チロシンキナーゼ、などを含む。免疫グロブリン様ドメインはタンパク質-タンパク質、タンパク質-リガンド相互作用に関わっている可能性がある。このドメインは主に7本の $\beta$ ストランドから成っており、4本のストランドが1枚目の $\beta$ シートを、3本のストランドが二枚目の $\beta$ シートを形作ってサンドイッチ型構造をとっている。更に、もう2本 $\beta$ ストランドが存在する。	
459	apobec-1 complementation factor isoform (ACF)	RRM (RNA recognition motif)	2CPD	on_hold		本蛋白質(ACF)は、APOBEC1(Apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide 1)に結合する蛋白質である。APOBEC1はアポリポ蛋白質B(ApoB)のmRNA上のシチジンセウリジンへ変換する脱アミノ化酵素である。このようなRNAエディティングにより、脂質代謝において中心的役割を果たすApoBの発現を肝臓では完全長型、小腸では短小型に制御している。ACFの機能としては、APOBEC1によりeditされたApoBのmRNAがnonsense-mediated decay(NMD)により分解されるのを防いでいるという報告がある。本解析ドメインの機能はまだ明らかになっていないが、RNAの結合が可能性として挙げられる。	
460	Ewing sarcoma breakpoint region 1; EWS	RRM (RNA recognition motif)	2CPE	on_hold		本蛋白質(EWS)には構成ドメインとしてRRM(RNA-recognition motif)やRGG boxが含まれることからその機能はRNAプロセッシングだと推測されている。重要なことは、EWSの遺伝子は、Ewing骨肉腫の80%に見られる転座、EWS/Fli-1のBreak pointに位置していることである。転座により生成されるキメラ蛋白質(EWSのRRMを含まないN末端領域/Fli-1のC末端ETS DNA結合ドメイン)の働きが腫瘍化の原因だと考えられている。本解析ドメインの機能は、RRMであることから、RNAまたは蛋白質結合だと考えられる。	
461	RNA binding motif protein 19	RRM (RNA recognition motif)	2CPF	on_hold		本研究所で解析した、PDB ID= 1WHW、1WHXなどと同じ蛋白質に含まれるドメインで、詳細な機能はまだわかっていないが現在機能同定中である。	
462	RNA binding motif protein 19	RRM (RNA recognition motif)	2CPH	on_hold		本研究所で解析した、PDB ID= 1WHW、1WHXなどと同じ蛋白質に含まれるドメインで、詳細な機能はまだわかっていないが現在機能同定中である。	
463	CCR4-NOT transcription complex subunit 4	RRM (RNA recognition motif)	2CPI	on_hold		本蛋白質(Not4p)は、酵母からヒトまで広く保存されている遺伝子発現制御因子Ccr4-Not複合体の中の一サブユニットである。この複合体は、酵母の場合5つのNot蛋白質(Not1pからNot5pまで)、さらにCaf1p、Caf40p、Caf130p、Ccr4pの9つのサブユニットから形成される。発見当初は転写制御因子だと考えられていたが、近年Caf1pおよびCcr4pにデアレニレース・ドメインおよび活性が認められたことから、RNAの寿命をも制御する因子だと考えられている。現在、Ccr4-Not複合体は非常に多岐に渡る機能を駆使して遺伝子発現を制御していると考えられている。一例として、本ドメインの含まれているNot4pサブユニットの機能が挙げられる。Not4pはE3ユビキチン・リガーゼ活性を有しており、Not4pに含まれるリングフィンガー・ドメイン(C4C4型)には、ユビキチン共役酵素UbcH5Bとの結合能がある。本解析ドメインは、RNPフォールドを有すること、および等電点が10.10ということから、RNA結合を担うドメインである可能性が高い。	
464	non-POU-domain-containing, octamer binding protein; Non0	RRM (RNA recognition motif)	2CPJ	on_hold		当蛋白質(Non0)は、ヒトのスプライシング因子p54nrb/PSFおよびハエのNonA/BJ6と相溶性が高い。ドメイン構成として、2xRRM(RNA-recognition motif)およびHTH(helix-turn-helix)DNA結合ドメインを有する。現在のところ機能はわかっていないが、遺伝子発現をDNAまたはRNAに結合することで制御していると考えられている本解析ドメインは、RNPフォールドを有すること、および等電点が10.16ということから、RNA結合を担うドメインである可能性が高い。疾患関連情報としては、nono遺伝子座における染色体転座と、乳頭副腎性細胞腺癌(papillary renal cell carcinoma; PRCC)との間に相関があると報告されている。(1) Inv(X)(p11.2;q12) TFE3とNONO (2) t(X;1)(p11.2;p34) TFE3とPSF。また、p54nrb/Non0は転写因子Spi-1/PU.1と結合することが報告されているが、後者の過剰発現はFriend赤白血病の原因であると考えられている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
465	SPAG7 protein	R3H domain	2CPM	on_hold		SPAG7はもともとキツネの蛋白質fox sperm protein (FSA-1)のヒトホモログである。SPAG7はGenBankやEMBLデータベースにヒト胎児脳のRNA転写物として登録されているものの、現在機能未知である。一方、FSA-1についてはキツネ精子の内部先端突起区画(inner acrosomal compartment)に局在していることが知られている。キツネ精子切片の免疫蛍光実験により、分化過程にある先端突起である半月状構造の円形および伸びた精子細胞においてFSA-1の発現が確認されている。また、キツネ精子のRNA試料に対するNorthern blot解析では、精子形成の活発な数ヶ月間に渡って同定されている。Zoo Northern blotによりイヌとマウスでも同様な精子RNAが存在することが確認され、また、Zoo Southern解析ではイヌ、マウス、ウシ、ヒツジのゲノムにもFSA-1の遺伝子が認められている。[Beaton, S. et al. Reprod Fertil Dev. 6, 761(1994)] 本蛋白質SPAG7およびFSA-1は、精子形成および精子構造形成にその役割を持っている可能性がある。今後これらの蛋白質の機能と構造を明らかにすることにより、精子形成メカニズムおよび受精メカニズムに関する知見が得られる可能性がある。R3Hドメインは、広い意味でRNAに結合してその機能を発揮する蛋白質に含まれることから、それ自身がRNA結合の担い手である可能性が示唆されている。	
466	TAR RNA-binding protein2; TRBP2	dsrm (double-stranded RNA-binding motif)	2CPN	on_hold		本蛋白質(TRBP2)は、TAR (HIV-1 transactivating response RNA) RNAに強く結合する蛋白質としてHeLa細胞から単離されてきたTRBP (TAR-binding protein)の二つのアイソフォーム (TRBP1, TRBP2)のうちの一つである。TRBP2の方がN末端側に21残基長い。いずれのアイソフォームにも二つのdsRBD(二重鎖RNA結合ドメイン)が含まれており、二つ目のdsRBD(本ドメイン)にTAR RNAへの主な結合能が認められている。RBPの働きを考える上で重要な蛋白質、PKR(interferon-induced dsRNA-regulated protein)がある。PKRはリン酸化酵素であり、それ自身もTAR RNA結合性2xdsRBDを有する。PKRは、二重鎖RNAに結合することによりeIF-2alphaをリン酸化する。その結果蛋白質合成が阻害される。PKRとTRBPはTAR RNAの異なる部位に結合するが、それらの間の蛋白質-蛋白質相互作用によりeIF-2alphaのリン酸化が阻害されるという報告がある。これがHIV-1の発現に対する正の効果に結びついている可能性が示唆されている。RBPの機能に関しては、上に述べた様な二重鎖領域を有する転写産物に対するPKR依存的な発現誘導のみならず、PKR非依存的な発現活性化も報告もされている。解析ドメインの機能は二重鎖RNAへの結合である。また、疾患の情報としてはHIV遺伝子の発現誘導にも関連していると考えられる。本ドメインは、そのアミノ酸配列から二重鎖RNA結合ドメイン(double-stranded RNA-binding domain: dsRBD)ファミリーに分類される。α1-β1-β2-β3-α2トポロジーを有し、三つのβストランドからなる逆並行型βシートに二つのαヘリックスが裏打ちしたα/βサンドイッチ構造を形成していた。dsRBDファミリーに関しては既に3つのタンパク質の立体構造が解かれている(staufen, PKR, Xlrpba, Rnt1p RNaseIII)。これらのタンパク質と本ドメインの立体構造を比較したところ、Xlrpbaと主鎖が非常に良く重なることがわかった。また、側鎖についても疎水性コアを形成するVal119, Leu22, Trp31, Pro34, Tyr36, Val56, Phe59, Leu80が良く重なった。XlrpbaについてはRNAとの複合体の立体構造が明らかにされている。興味深いことに、XlrpbaにおいてRNA相互作用に参与していたアミノ酸残基(His141, Arg143, Gln118, Glu119, Thr161, Ser162, Lys163, Lys167)もDSRM_8には保存されていた(His46, Lys48, Gln23, Glu24, Thr66, Ser67, Lys68, Lys72)。	
467	Fragile X mental retardation syndrome related protein 1	KH domain	2CPQ	on_hold		本蛋白質(FXR1)は、脆弱X染色体症候群(fragile X syndrome)の原因遺伝子fmr1(Xq27.3)の関連遺伝子fxr1の遺伝子産物である。脆弱X染色体症候群は、fmr1に変異が起こることで発現が抑制されたり、または機能が欠損した蛋白質が発現することにより発症すると考えられている。FMR1, FXR1, FXR2はファミリーを形成しており、RNA結合、ポリリボソーム結合および核-細胞質間シャトリングに参与していると考えられている。本解析ドメインの機能はRNA結合である。	
468	Polymyositis/scleroderma autoantigen 100 kDa (PM/Sc1-100)	HRDC (Helicase and RNase D C-terminal) domain	2CPR	on_hold		全長タンパク質のPM/Sc1-100はexoribonucleaseであるが、他の10種類程のexoribonucleaseとともにexosome巨大複合体を形成している。このexosomeはRNAの3'から5'方向へのプロセッシング、または分解に参与している。プロセッシングについては、5.8 S rRNAのマチュレーション、多くのsnRNAやsnoRNAのプロセッシング、多種のmRNA、特にAU-rich配列を有するmRNAのターンオーバーが上げられる。本解析ドメインであるHRDC (Helicase and RNase D C-terminal) domainは核酸結合を担うと考えられている。PM/Sc1-100をはじめとして、exosomeの他のサブユニット、PM/Sc1-75やhRrp4pは、多発性筋炎/強皮症重積症候群(polymyositis/scleroderma overlap syndrome)自己抗体に対する主要な自己抗体決定因子をその中に含んでいる。自己抗体決定因子とHRDCドメインの間に関係があるかどうかはまだわかっていない。	
469	SKD1	MIT domain	2CPT	on_hold		SKD1 (suppressor of potassium transport growth defect 1)はAAA-ATPaseファミリーに属し、ほ乳類のclass E Vps (vacuolar protein sorting)タンパク質群の一つである。SKD1の全長は約440残基で構成されている。配列相同性解析の結果、このタンパク質には少なくとも2つのドメインが存在しており、N末端の約90残基はMITドメインと、C末端側の約230残基はAAAカセットと相同性を示している。SKD1のATPase活性欠損型であるSKD1 (E235Q)を大量発現させた細胞内において、エンドソームを通じた物質輸送が攪乱されたことから、SKD1はエンドソームを通じた物質輸送に重要な役割を果たしていると考えられている。構造解析したMIT(microtubule-interacting and trafficking molecules)ドメインは新規ドメインであり、我々の構造以外立体構造はまだ報告されていない。3本のalpha-helix (全長タンパク質の残基番号6-23, 27-46, 52-79)で構成され、その3本のhelixがパッキングすることによってthree-helix bundle構造を形成している。	
470	KIAA1959 protein	UBA (Ubiquitin associated) domain	2CPW	on_hold		全長タンパク質は、ユビキチン・プロテアソームタンパク質分解に関与。解析対象ドメインは、ユビキチン運搬タンパク質(E2)、ユビキチン連結酵素(E3)、ユビキチンC末加水分解酵素(UBPs)がユビキチンに結合する部位である。	
471	Hypothetical protein FLJ11016.	RRM (RNA recognition motif)	2CPX	on_hold		ヒトの全長cDNAからタンパク質が発現することは確認されているが、現段階ではその機能およびその生物学的意義はあまり解明されていない。今後のヒトゲノム研究による機能解析から病因解明や創薬などへの応用が期待される。今回解析したドメインの機能はRNA結合である。RRMに特徴的な2本のαヘリックスと4本のβシートを持つ構造である。α1とβ2間の残基数が非常に多く、α1後にもう一巻き分のαヘリックスがある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
472	RNA binding motif protein 12	RRM (RNA recognition motif)	2CPY	on_hold		全長タンパク質は、精子細胞の成熟に関係していると考えられ、解析対象ドメインの機能はRNAへの結合である。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ構造をとっていた。 $\alpha$ 1と $\beta$ 2間の残基数が多く構造的に膨らみ、 $\beta$ 4の後に3本目の $\alpha$ ヘリックスがある。605番のヒスチジンと616番のバリンのアミド間で水素結合を形成している可能性がある。	
473	CUG-BP1	RRM (RNA recognition motif)	2CPZ	on_hold		全長タンパク質は、当初は筋ジストロフィーの原因タンパク質の1つとして発見されたが、現在ではその可能性が低いとされている。しかし、RRMドメインを持つことからmRNAのプロセッシング制御や脱アデニル化など、RNAへの何らかの関与が示唆されている。本解析ドメインの機能はRNAへの結合である。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ構造で、多くのRRMの場合、 $\beta$ 1, $\beta$ 2, $\beta$ 3上に芳香環が全部で2~3個であるのに対し、この構造では5個である。	
474	eIF3-p44	RRM (RNA recognition motif)	2CQ0	on_hold		ヒトのeIF3は少なくとも12個のサブユニットからなり、翻訳開始因子の中で最大のタンパク質複合体である。このタンパク質複合体は40S開始複合体を形成するために他の開始因子と相互作用する。さらに、翻訳開始のtRNAを含むeIF2/GTP/Met-tRNAi(Met)複合体やeIF4Gとも結合する。解析したドメインはeIF3-p44に含まれるRNA結合部位である。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ典型的な構造をとっていた。	
475	polypyrimidine tract binding protein 3	RRM (RNA recognition motif)	2CQ1	on_hold		このタンパク質はRNAプロセッシングの制御に重要な要素であるpolypyrimidine tract binding protein (PTB)と高い相同性があり、このタンパク質もRNAプロセッシングの制御に関わっていると考えられる。またこのタンパク質は脳で発見され、神経細胞でのRNAプロセッシングの制御に関係していると考えられている。本解析ドメインはRNA結合ドメインである。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ構造をとっている。多くのRRMと比べて $\alpha$ 2と $\beta$ 4間が数残基多く $\beta$ ヘアピン構造を取っているため、構造的にはその分 $\alpha$ 2が外に出っ張った形になっている。	
476	Hypothetical protein LOC91801.	RRM (RNA recognition motif)	2CQ2	on_hold		ヒトの全長cDNAからタンパク質が発現することは確認されているが、現段階ではその機能およびその生物学的意義はあまり解明されていない。今後のヒトゲノム研究による機能解析から病因解明や創薬などへの応用が期待される。本解析ドメインのRRMはRNAに結合するという機能を持ち、構造はRRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ構造であった。N端側に数残基(29-33)からなる $\alpha$ ヘリックスがある。多くのRRMと比べて $\beta$ 1と $\alpha$ 1間が長く局所的にヘリックスを巻き、 $\alpha$ 2と $\beta$ 4間も長くこちらは長い $\beta$ シートを形成している。	
477	RNA binding motif protein 9	RRM (RNA recognition motif)	2CQ3	on_hold		ヒトの全長cDNAからタンパク質が発現することは確認されているが、現段階ではその機能およびその生物学的意義はあまり解明されていない。今後のヒトゲノム研究による機能解析から病因解明や創薬などへの応用が期待される。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ典型的な構造をとっている。181番のヒスチジンの側鎖と192番のバリンのアミド間で水素結合を形成している可能性がある。	
478	RNA-binding region containing protein 4 (Splicing factor SF2)	RRM (RNA recognition motif)	2CQ4	on_hold		ヒトの全長cDNAからタンパク質が発現することは確認されているが、現段階ではその機能およびその生物学的意義はあまり解明されていない。しかし、RNA-binding region containing protein 4 (Splicing factor SF2)と相同性が高いことから、RNAスプライシングに関係している可能性がある。今後のヒトゲノム研究による機能解析から病因解明や創薬などへの応用が期待される。RRMに特徴的な2本の $\alpha$ ヘリックスと4本の $\beta$ シートを持つ典型的な構造。ドメイン構造のN端側とC端側ともに逆平行的な位置関係で $\alpha$ ヘリックスを持つ。	
479	LUCA15	RRM (RNA recognition motif)	2CQ5	on_hold		全長タンパク質はアポトーシスと細胞周期をコントロールしていると考えられている。一般にRRMドメインはRNAに結合するが、このドメイン単独で認識するRNA配列は明らかになっていない。全長タンパク質では、特にpoly G, poly Uへの結合が強いことが明らかになっており、RRMドメインのRNA認識について新たな知見が得られる可能性がある。癌抑制因子と考えられている。最初は肺癌抑制遺伝子座に存在する遺伝子として同定された。最近ではdeath-inducing ligand TRAILやTNF- $\alpha$ ヘアピン型アポトーシス、Fasヘアピン型アポトーシスに影響を与え、アポトーシスを促進すること、スプライスバリエントが存在し、白血病細胞株では、このスプライスバリエントの増加によって細胞周期の周期が短くなることや、アポトーシスを抑制すること、などが示唆されている。RRMは、4本の逆平行 $\beta$ シートと2本の $\alpha$ ヘリックスから成る。典型的なRRMでは、 $\beta$ 1, $\beta$ 3上の2つの芳香族アミノ酸がRNAの認識に重要な役割を果たしているが、このRRMでは、 $\beta$ 1の芳香族アミノ酸の位置が疎水性アミノ酸になっている。	
480	LUCA15/RBM5	RRM (RNA recognition motif)	2CQ6	on_hold		全長タンパク質はアポトーシスと細胞周期をコントロールしていると考えられている。一般にRRMドメインはRNAに結合するが、このドメイン単独で認識するRNA配列は明らかになっていない。全長タンパク質では、特にpoly G, poly Uへの結合が強いことが明らかになっており、RRMドメインのRNA認識について新たな知見が得られる可能性がある。癌抑制因子と考えられている。最初は肺癌抑制遺伝子座に存在する遺伝子として同定された。最近ではdeath-inducing ligand TRAILやTNF- $\alpha$ ヘアピン型アポトーシス、Fasヘアピン型アポトーシスに影響を与え、アポトーシスを促進すること、スプライスバリエントが存在し、白血病細胞株では、このスプライスバリエントの増加によって細胞周期の周期が短くなることや、アポトーシスを抑制すること、などが示唆されている。RRMは、4本の逆平行 $\beta$ シートと2本の $\alpha$ ヘリックスから成る。典型的なRRMでは、 $\beta$ 1, $\beta$ 3上の2つの芳香族アミノ酸がRNAの認識に重要な役割を果たしているが、このRRMでは、 $\beta$ 1の芳香族アミノ酸の位置が疎水性アミノ酸になっている。	
481	Testis-specific protein (TPX-1)	cysteine-rich domain	2CQ7	on_hold		TPX-1はcysteine-rich secretory protein (CRISP) familyの中の一つで、男性生殖細胞が他の生殖細胞と相互作用するのを促進する働きがあると考えられている。今回解析したドメインは、イソギンチャク毒やC. elegansの機能未知タンパク質のいくつかにおいて見いだされている。このドメインは約30アミノ酸からなり、システインリッチであるのが特徴的である。6個の保存されたシステインは3つのジスルフィド結合を形成するものと考えられている。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
482	10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase (10-FTHFDH)	pp-binding	2CQ8	on_hold		10-formyltetrahydrofolate (10-FTH)はスクレオチド生合成に要求される前駆体であり、FDHはNADP(+)依存の10-FTHからTHへの酸化反応およびNADP(+)に依存しない10-FTHからTHへの加水分解反応を触媒する。FDHはN-末端に310残基からなる10-formyltetrahydrofolate hydrolase (FH)活性をもつドメインを、C-末端に485残基からなるaldehyde dehydrogenase (ALDH)活性を持つドメインを持っている。また、10-FTHFDHはALDHと類似の様式でNADP(+)依存のpropanalの酸化およびp-nitrophenyl acetate (pNPA)の加水分解も触媒することも知られている。本解析ドメインは4本の $\alpha$ -helixがbundleした構造をとっており、354番目のセリンにPhosphopantetheineが結合すると予想されている。補欠分子である4'-phosphopantetheineがセリンを介して結合し、活性化された脂肪酸やアミノ酸などがタンパク質に結合するための“swinging arm”として働く。このタンパク質を欠損したマウスのホモ接合体では完全に正常であるようだが、ホモ接合体どうしの交配では生殖効率の劇的な低下を示したという報告があり、本解析が生殖系疾患の治療に関与することが考えられる。4本の $\alpha$ -helixがbundleした構造で、SER354にPhosphopantetheineが結合すると予想されている。	
483	GLRX2 protein		2CQ9	on_hold		グルタレドキシンはグルタチオン依存のジスルフィド酸化還元酵素であり、多機能を持つファミリーに属する。グルタレドキシシン2は他のグルタレドキシシンと異なりribonucleotide reductaseを還元できないが、他のグルタレドキシシンよりも高い触媒活性を持つ。活性部位残基(E.coliではC9-P10-Y11-C12)は他のグルタレドキシシンと同様に、N末端とC末端ドメイン間のインターフェイスに見られるが、それ以外で類似性は見られない。構造的にはglutathione-S-transferase (GST)と類似しているが、明らかな配列類似性はない。ドメイン間のコンタクトは主に疎水的な相互作用であり、それぞれのドメイン単独では不安定であることが予想される。また、両ドメインが正しいフォールディングと活性に必要であるとも言われている。グルタレドキシシン2の主な機能は、酸化ストレスへの対応を含む細胞内の酸化還元制御において、蛋白質の可逆的なグルタチオン化を触媒することであるとされている。本ドメインは活性部位残基を含んでいるため、他のグルタレドキシシンの様にジスルフィドの酸化還元を触媒するドメインであると予想される。疾患関連情報は無いが、E.coliのnull mutantの実験においてグルタレドキシシン2の遺伝子を欠いた細胞では、hydrogen peroxideやoxidantへの感受性が増し、とりわけS期での細胞内蛋白質のカルボニル化の増加が見られている。また、チオレドキシシン1とグルタレドキシシンのnull mutantにおいては、カタラーゼ活性のup-regulationが見られており、抗酸化体応答でのチオレドキシシン/グルタレドキシシン経路とカタラーゼは相互に連携しているという報告がある。構造はglutathione-S-transferase (GST)と同じフォールドをとっている。触媒活性部位残基は高度に保存された2つのシステインを含むC5YCの4残基である。	
484	RuvB-like 2(TIP49b)	TIP49 N-terminal domain	2CQA	on_hold		TATA-box binding protein interacting protein 49b (TIP49b)は、真核生物においてバクテリアの組換え蛋白質RuvBに構造的な類似性を示すDNA helicaseとして同定された。DNA helicase活性が5'から3'方向である点が、同じ遺伝子ファミリーに属しているTIP49aとは異なっている。精巣や胸腺で恒常的に発現しており、1本鎖DNAとの結合によりATPase活性が発現することが報告されている。細胞内でTIP49bはTIP49aとともにおよそ700kDaの複合体の一部として存在している。TIP49bは細胞周期やストレスおよびDNAダメージに応答するアポトーシスのコントロールで中心的な役割を担っているATF2のレギュレーターであるという報告もあるため、非常に重要な蛋白質であると言える。今回解析したのはTIP49b C-terminal domainのN-末端側に相当する領域であるため、本ドメインが単独で機能する最小単位であるかどうかは定かではないが、構造がDNA結合タンパク質に見られる構造モチーフに類似しているため、本ドメインもDNAと結合する可能性が考えられる。従って、本ドメインがTATA-boxと結合する役割を担う、重要な機能を果たしているのかも知れない。TIP49はDNA-stimulated ATPaseの複合体を構成する蛋白質の一つであるが、ゼブラフィッシュにおいてこの複合体の構成蛋白質であるReptinに変異を加えた場合に、胚性心臓の過形成を引き起こすことが報告されているため、TIP49の変異、欠損も同様な疾患につながる可能性が考えられる。	
485	peptidyl-prolyl cis-trans isomerase E	RRM (RNA recognition motif)	2CQB	on_hold		Peptidyl-prolyl cis-trans isomeraseをもつRNA結合ドメイン。構成としてとても珍しいが、スプライソソームなどの構成の変化を引き起こすなど生体内の分子の再構成に必要ではないかと考えられる。本解析ドメインは二つのRNP motifがあり、RNAと結合する。典型的なRRMの構造をしている。	
486	Arginine/serine-rich splicing factor 10, Tra2-beta	RRM (RNA recognition motif)	2CQC	on_hold		ショウジョウバエのtra2蛋白質のヒトホモログで、生体内では、SMN遺伝子の選択的スプライシングを制御する因子であると考えられる。相互作用するタンパク質はhnRNP G、RNPS1があり、RNAに対してはpoly(A)およびスプライシング促進因子に存在するGAA motifと相互作用する。ドメインの機能は今まで解明されていなかったが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。脊髄性筋萎縮症に関係する。本ドメインは典型的なRRMの構造をしている。	
487	RNA-binding region containing protein 1	RRM (RNA recognition motif)	2CQD	on_hold		RNA-binding region containing protein 1の生物学的意義は今まで解明されていなかったが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。典型的なRRMの構造をしているのでRNAと結合すると思われる。	
488	KIAA1064 protein (Fragment)	zf like domain	2CQE	on_hold		全長タンパク質の生物学的意義やドメインの機能は今まで解明されていなかったが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。解析の結果、レトロウィルスのCCHC typeのZinc-finger domainと同様な構造をしていた。しかし、二つのZinc-finger domainのリンカー部位が短いため、片方のZinc-finger domainにあるRNAと相互作用しているアミノ酸が構造のコアに向いている。RNA結合部位が見出されている。	
489	RNA-binding protein LIN-28	zf-CCHC2 domain	2CQF	on_hold		Lin-28をコードしているlin-28mRNAは承継の中で最も初期に生成される分化細胞で特異的に発現する。Lin-28は転写後調節に関わるタンパク質をコードしていると考えられており、線虫の幼虫発生において時間特異的な細胞個性の決定を行なっていることが明らかにされている。cold shock domain (CSD)とレトロウィルス型のCCHC Zinc-fingerを持つ。生物学的意義は今まで解明されていなかったが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。RNAと結合するレトロウィルスのCCHC typeのZinc-finger domainと同様な構造をしている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
490	TAR DNA-binding protein-43 (TDP-43)	RRM (RNA recognition motif)	2CQG	on_hold		TAR DNA 結合蛋白質に存在するRNA結合蛋白質で、転写後レベルでの制御を行っていると考えらる。構造は、2本のαヘリックスと6本のβシートから形成され、トポロジーとしては典型的なRBD foldとなった。13は通常 RRM では長さにバラエティーがあり収束が悪いものも多いが、本解析ドメインでも13のループは非常に長く、また15については比較的短いループとなっていた。β2の始めにはbulgeが形成されていて、α1の始めにはN-capが形成されていた。	
491	Insulin-like growth factor 2 mRNA-binding protein 2	RRM (RNA recognition motif)	2CQH	on_hold		IGF-II (インシュリン様成長因子II) は成長因子として非常に重要な働きをする。IGF-II mRNA-binding protein (IMPs)はN末側に2つのRRM domainと中央とC末側に4つのKH domainを有している。IMP2はIGF2 leader 3 mRNAと結合し、IMP1、IMP3と59%~66%の配列相同性を持っている。本タンパク質にある2つのRRM (RNA認識モチーフ)のうち、本ドメインはそのN末側(最もN末端側)に存在している。2つのRRMと4つのKH domainはIGF-II leader 3 mRNAの5' UTRと相互作用があることが分かっている。このN末端のRRMの構造解析を行うことで、更に詳しくmRNAとの認識が明らかになると思われる。IMP2は細胞質に局在し、ヒト肝細胞癌の患者の21%で自己抗体が見つかった。3次構造は2本のαヘリックスと6本のβストランドから形成される典型的なRRM foldであった。またβ2の入口にはbulgeが形成されていて、β1とβ3にはTyr, PheとRNA結合に関与していると思われる外向きの芳香環も確認された。構造からはRNAとの結合が高く期待できる。	
492	TIA1 cytotoxic granule-associated RNA-binding protein-like 1 isoform 1	RRM (RNA recognition motif)	2CQI	on_hold		TIA1 はRNA結合タンパク質であり、細胞傷害性Tリンパ球に対してnucleolytic活性を持っている。遺伝子産物は細胞傷害性顆粒関連タンパク質であり、poly(A) ホモ重合体と特異的に結合することが示されている。また、このタンパク質ファミリーはアポトーシスを引き起こすことに関わっており、Drosophila melanogasterにおけるmale-specific-lethal 2遺伝子とヒトのアポトーシス遺伝子Fasの選択的pre-mRNAスプライシングを調節していることが分かっている。cytotoxic granule-associated RNA-binding protein 1 (TIA1)はRRMを3つ含んでいるが、本ドメインはそのうち最もN末に存在するRRMであり、RNA結合に関与していると思われる。2つのαヘリックスと6つのβストランドで形成された典型的なRNA結合ドメイン(RRM)フォールドである。RNAとの結合に重要な芳香環も保存されている。	
493	U3 small nucleolar ribonucleoprotein IMP3 homolog (BRMS2).	S4 domain	2CQJ	on_hold		BRMS2に関してはあまり研究が進んでないようであるが、本タンパク質はU3 small nucleolar ribonucleoprotein protein (snorNP)コンポーネントであり、yeastではImp3pとImp4pがU3 snorNP特異的タンパク質であるMPP10と結合することが分かっている。また、Imp3pとImp4pはどちらもpre-18S rRNAプロセッシングにおけるU3 snorNP機能に非常に重要であることが明らかとなっている。本ドメインであるS4 domainは60-65残基から成る小さなドメインであり、バクテリアのリボソームタンパク質S4、真核生物におけるS9、pseudouridine synthase, RNA methylases, 翻訳調節に関わるとされる小さなタンパク質などで見つかった。RNA結合ドメインである。3本のαヘリックスと5本のβシートから形成されており、すでに構造決定されているいくつかのタンパク質に見られるS4 domainフォールドとほぼ同一のトポロジーであったが、3番目のαヘリックスは本タンパク質において特徴的であった。	
494	C-Mpl binding protein	La motif	2CQK	on_hold		c-Mplはサイトカイン受容体スーパーファミリーのメンバーでありthrombopoietinなどをリガンドとすることが知られているが、c-Mpl binding proteinについてはほとんど研究が進められていないようであるので、この構造解析の結果がc-Mpl binding proteinについての機能の手がかりとなるかもしれない。La proteinでRNA結合部位が数カ所示唆されているが、現在までに分かっているRNA結合部位は、結合に十分な程ではない。(La proteinでRNA結合部位が数カ所示唆されているが、現在までに分かっているRNA結合部位は、結合に十分な程ではない。) La motifは6本のαヘリックスと3本のβストランドから成る逆平行βシートから形成されていた。La motifはRNAと結合するにも関わらず、その3次構造は一般的に転写因子で多く見られるDNA結合モチーフ、winged-helix-turn-helixフォールドと非常に良く似ていた(ただしそのうち3つのαヘリックスはinsertionである)。現在までにwhTH proteinがRNAと結合するという報告は伸長因子であるselBのみであるので、La motifを解析することは、RNA結合様式のみならずwhTH proteinのDNA結合様式をより理解するのに有用であると考えられる。特に芳香環がRNAとの結合に重要であり、その様式はRRMに似ていると考えられている。本ドメインにおいては、すでに実験されているLa proteinとの構造的なアミノ酸配列比較より、Q21, E23, F24, F26, N30, D34, Y36, L37, R88がRNA結合に重要な残基であると考えている。また、これらの残基の構造上の比較では、La proteinと殆どが完全一致していた。ゆえに、本タンパク質においてもRNA結合の可能性は高いことが構造から考えられる。	
495	60S ribosomal protein L9	Ribosomal protein L6	2CQL	on_hold		真核生物のリボソームは小さな40Sサブユニットと大きな60Sサブユニットから形成され、タンパク質合成の触媒に関わっている。本タンパク質はリボソームの分類として真核のLarge subunit部位のL9であり、リボソームタンパク質のL6Pファミリーに属している。構造としては原核のL6とほぼ同等である。原核生物のRibosomal protein L6には2つのL6があり、3次構造としてはほぼ同一である。そのうち配列が本ドメインに相当するのはL6のN末ドメインであった。C末端側に1つの長いαヘリックス、6つのβストランドから成るトポロジーはすでに構造が決定されているL6pのN末端領域とほぼ一致した(L6L6参照)。N末側β1のはじめ(L1)、β5とβ6の間(L2)、C末側α1のはじめ(L3)、の3箇所に3次構造が収束しないループ領域が存在した。そのうちL1とL3はL6pにおいてrRNAとの結合に関与しているのではと言われている領域であるので、L9eにおいてもこの領域がRNAとの結合に関与している可能性がある。フレキシブルなループ3箇所が結合に関与している可能性がある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
496	mitochondrial ribosomal protein L17	Ribosomal protein L17	2CQM	on_hold		ミトコンドリアのribosomal protein L17 (MRP-L17) は、バクテリアのribosomal protein L17 と配列の相同性が 46% 程あった。その他の ribosomal protein は一次配列の相同性がないので、ミトコンドリア L17 はバクテリアの L17 と近いと思われる。一番真核に近いと言われている古細菌でのリボソーム複合体には L17 は存在していない (or 現在までには見つかっていない)。ミトコンドリアのribosomal protein L17 単独の機能として報告されているものは存在しない。ミトコンドリアの 16S rRNA とバクテリアの 23S rRNA は 5' 領域においてアラインメントがとれないが、生化学的手法からL17 が関わっているとされている領域の rRNA については保存されているようだ。またミトコンドリアのリボソームの電子顕微鏡による構造から、ミトコンドリアのL17 は Eubacterium で解かれた構造と空間的配置はほぼ同一であることが示されているので、このことからバクテリアL17と機能が近いものと考えている。本ドメインは6つの $\alpha$ ヘリックスと3本のストランドから形成されていた。すでにBacteria-Specific L17 Ribosomal Proteinの結晶構造は解かれていて (2000, PDB ID: 1gd8) その構造と比較すると、トポロジーは同一であったが、全体的に $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ ストランドの2次構造の長さが本ドメインの方が短いようである。途中に NOE がほとんど観測されない長いフレキシブルな領域があり、そこが RNA との結合に関与しているのかもしれないと考えている。	
497	formin binding protein 3 (Huntingtin-interacting protein HYPA/FBP11)	FF domain	2CQN	on_hold		HYPA/FBP11、HYPC、CA150はすべて、ハンチントン病で変異する遺伝子にコードされているhuntingtinタンパク質と相互作用することが知られており、これらの相互作用の崩壊がハンチントン病の病状に貢献しているのではないかということが示唆されている。解析したFF domain はタンパク質間相互作用に関係しており、RNA polymerase IIでリン酸化を受けるC末端に存在する YSPSPS repeatに結合することが分かっている。またFNB3_HUMAN(本全長タンパク質) には5つのFF domainが存在し、本ドメインはその5番目に位置している。HYPA/FBP11、HYPC、CA150はすべて、ハンチントン病で変異する遺伝子にコードされているhuntingtinタンパク質と相互作用することが知られており、これらの相互作用の崩壊がハンチントン病の病状に貢献しているのではないかということが示唆されている。解析した結果、4本の $\alpha$ ヘリックスから成るヘリカルな構造をとっていた(1UZZ参照)。	
498	Putative S1 RNA binding domain protein (PS1D)	S1 RNA-binding domain	2CQO	on_hold		本タンパク質 PS1D (Genbank accession number) は S1様RNA結合ドメイン、CCCH型 Zinc fingerドメイン、塩基性に富んだC末端ドメインを有している。機能未知タンパク質ではあるが、このタンパク質は真核生物の 60Sリボソームサブユニットのコアに属することが明らかになっている。また、PS1Dはネズミ、ヒト、類人猿などの哺乳類において95%の配列相同性を持っているが、酵母や線虫などの低い真核生物ではホモロジーがない、ということから、PS1Dは高い真核生物だけに特徴付けられる初めての真核生物リボソームタンパク質であると考えられている。S1 domain は RNA結合ドメインであり、元々はリボソームタンパク質S1で定義されたが、RNA関連タンパク質の広い範囲に存在しているドメインであることが知られている。核酸に結合する cold shock proteinに構造類似性があり、このことからこれらS1 domainとcold shock proteinは古代から派生している核酸結合タンパク質であると推測されている。5本のストランド(と2本の短いヘリックス)から形成される逆平行ストランド $\beta$ バレルとなり、典型的な OB-fold 構造であった。バレルの表面には保存残基が存在する。	
499	RNA-binding protein 12	RRM (RNA recognition motif)	2CQP	on_hold		この遺伝子は3つのRNA結合モチーフ、膜貫通領域の可能性のある領域、プロリンに富んだ領域を含むタンパク質をエンコードしている。遺伝子の分類からは核酸、RNA結合であると言われているが詳しいことはまだ分かっていないようである。本ドメインは全長タンパク質の中に3つ存在するRRMのうち、3番目のRNA結合ドメインである。遺伝子の分類から全長がRNA結合に関与していると推測されていることから、本ドメインも核酸結合に関与していると思われる。2つの $\alpha$ ヘリックスと6つの $\beta$ ストランドから形成されるRRMのフォールドとしてはRNA結合に関与するRRMと同じであったが、RNA結合に重要な残基( $\beta$ シート上の芳香環)が保存されておらず、通常は $\beta$ 2の始めにあるバルジも、 $\beta$ 2の始めでなく $\beta$ 3の始めにあった。これはRNA結合するhnRNP-CのRNA結合ドメインと似ている。	
500	DNAJC1 protein	myb_DNA-binding domain	2CQQ	on_hold		マウス腫瘍細胞DnaJ-like protein 1 (MTJ1)はミクロソームおよび核に集中している膜J-ドメインタンパク質で、管腔のJ-ドメインは分子シャペロンBiP/GRP78のATPaseを刺激することが知られている (JBC 275, 19620 (2000))。本タンパク質はふたつのmybDNA-bindingドメイン(mybDNA-binding1とmybDNA-binding2)をもつMTJ1のhuman homolog (HTJ1)で、解析ドメインはHTJ1のN末側に位置するmybDNA-binding1に相当する。このタンパク質の2番目のmybDNA-binding (SANT) ドメインは $\alpha$ 1-antichymotrypsin (ACT)と相互作用することがKroczyńskaらにより報告されている (JBC 279 11432 (2004))。Kroczyńskaらは、HTJ1上のふたつのmybDNA-bindingドメインには互換性がなく、ACTとmybDNA-binding1は結合しないことが細胞基質でのtwo-hybrid screeningにより明らかにされた。HTJ1のmybDNA-binding1とmybDNA-binding2のタンパク質モデリングでは両者はよく似たフォールディングであるが、表面の残基はSANT1の方がSANT2に比べて極性が高いことが予想された。これらの違いが特異性すなわちHTJ1のmybDNA-bindingドメインの機能を制御しているのであろうと述べられている。さらに「This hypothesis is currently being tested in our laboratory.」と付け加えられており、構造解明が強く期待されている。今回、HTJ1のmybDNA-binding1および2の構造を明らかにすることにより、ACTとの相互作用およびserpin (セリンプロテアーゼ阻害因子の一群) 阻害活性に結びつく新たな情報が得られることが期待される。一般的にmyb DNA binding domainは、タンパク質SWI3、ADA2、N-CoR、TFIIIBに存在するDNA結合ドメインSANTとともにZeste DNA binding domainに分類される。血球分化特異的転写因子であるc-MybのDNA結合ドメインであり、G/C richモチーフという特異的DNA配列への結合に機能する。これらのドメインはそのタンデムコピーがキャップ複合体の一部としてテロメアDNAタンデムリピートと結合することから、転写抑制子のDNA結合ドメインとしても知られている。構造は3本のヘリックスからなるが、その長さにはばらつきがある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
501	DNAJC1 protein	myb_DNA-binding domain	2CQR	on_hold		マウス腫瘍細胞DnaJ-like protein 1 (MTJ1)はミクロソームおよび核に集中している膜ドメインタンパク質で、管腔のドメインは分子シャペロンBiP/GRP78のATPaseを刺激することが知られている(JBC 275, 19620 (2000))。本タンパク質はふたつのmybDNA-bindingドメイン(mybDNA-binding1とmybDNA-binding2)をもつMTJ1のhuman homolog (HTJ1)で、解析ドメインはHTJ1のC末側に位置するmybDNA-binding2に相当する。このタンパク質の2番目のmybDNA-binding (SANT)ドメインは $\alpha$ 1-antichymotrypsin (ACT)と相互作用することがKroczyńskaらにより報告されている(JBC 279 11432 (2004))。Kroczyńskaらは、HTJ1上のふたつのmybDNA-bindingドメインには互換性がなく、ACTとmybDNA-binding1は結合しないことが細胞基質でのtwo-hybrid screeningにより明らかにされた。HTJ1のmybDNA-binding1とmybDNA-binding2のタンパク質モデリングでは両者はよく似たフォールディングであるが、表面の残基はSANT1の方がSANT2に比べて極性が高いことが予想された。これらの違いが特異性すなわちHTJ1のmybDNA-bindingドメインの機能を制御しているのであろうと述べられている。さらに「This hypothesis is currently being tested in our laboratory.」と付け加えられており、構造解析が強く期待されている。今回、HTJ1のmybDNA-binding1および2の構造を明らかにすることにより、ACTとの相互作用およびserpin(セリンプロテアーゼ阻害因子の一群)阻害活性に結びつく新たな情報が得られることが期待される。一般的にmyb DNA binding domainは、タンパク質SWI3、ADA2、N-CoR、TFIIIBに存在するDNA結合ドメインSANTとともにZeste DNA binding domainに分類される。血球分化特異的転写因子であるc-MybのDNA結合ドメインであり、G/C richモチーフという特異的DNA配列への結合に機能する。これらのドメインはそのタンデムコピーがキャップ複合体の一部としてテロメアDNAタンデムリピートと結合することから、転写抑制複合体の調節因子のDNA結合ドメインとしても知られている。構造は3本のヘリックスからなるが、その長さにはばらつきがある。	
502	hypothetical protein	Acyl-Coenzyme A binding domain	2CQU	on_hold		全長タンパク質は364残基からなり、121~292残基がenoyl-CoA isomeraseであり、9~93残基がAcyl-CoA binding protein (ACBP)ドメインである。Enoyl-CoA isomeraseは脂肪酸の分解に関わる主要な異性化酵素の一つである。ドメインの機能は次の通りである。a) 細胞内における、Acyl-CoAの運搬体・貯蔵体、b) $\gamma$ アミノ酪酸A型(GABAA)受容体に位置するベンゾジアゼピン結合部位からジアゼパムを移動させる(diazepam binding inhibitor: DBI)、c) 細胞増殖に作用する、d) 膵臓細胞からのインシュリン放出のregulator、e) 副腎皮質刺激ホルモン依存副腎ステロイド合成におけるmediator。ACBPファミリーには、上記のドメイン機能b)のようにDBIとしても働くものもある。DBIは、脳内で抑制性神経伝達物質であるGABA A含有する神経細胞のシナプス小胞体に存在するペプチドで、中枢神経のみならず末梢臓器にも分布している。薬理学的、電気生理学的研究によりベンゾジアゼピン受容体の逆アゴニストとしての薬理活性を有すること、及び内在性不安誘発物質として作用することなどが明らかにされており、多くの中枢神経疾患で観察される精神症状の発現に関与している可能性が考えられている。重度の抑うつを伴うアルツハイマー病、恐慌状態、神経機能低下を付随する痴呆などを有する患者の髄液中でDBI様物質が増加することが報告されている。また、薬物依存あるいは退薬症候群発現にもDBIが関与していると考えられている。アルコールやニコチン、モルヒネに依存したマウス由来ニューロンの検討により、DBIとそのmRNA発現量の著しい増加が観察されている。構造上の特性としては、ACBPの構造は大部分が $\alpha$ -タンパク質で、4つの $\alpha$ -ヘリックスから構成される。	
503	Myosin light chain kinase, smooth muscle and non-muscle isozymes	I-set domain	2CQV	on_hold		MLCKはCa結合型Calmodulin依存的に平滑筋収縮を起こさせる酵素である。また、血管の透過性上昇や浮腫の形成にも主要な役割を果たしている。神経系では、アストロサイトの成長開始の制御や交感神経系カングリオン細胞間のシナプスにおいて、神経伝達物質の放出に関与している。MLCKはSer/Thr protein kinaseドメインに加えて1個のFNIIIドメインと9個のig-likeドメインからなる。今回構造解析を行ったのは、8番目のig-likeドメインである。全体的にはig-likeドメイン特有の $\beta$ サンドイッチ構造を取るが、第1 $\beta$ -strandが前半で第2 $\beta$ -strandと反平行 $\beta$ シートを形成し、後半で第7 $\beta$ -strandと平行 $\beta$ シートを形成している点に特徴がある。	
504	sushi domain containing 2	SMB-like domain	2CQW	on_hold		このタンパク質は、マウス由来の“Sushi domain containing 2 (Susd2)”であり、全長が820残基から構成される。Signal peptide (1-23)に続き、Somatomedin_B-like domain (25-64)、AMOP domain (282-430)、VWD domain (433-609)、Sushi domain (722-775)を含み、C末にtransmembrane領域を持つ。AMOP domainやSushi domainは細胞接着に関与し、また、含まれている全ドメインがドメイン内のCys同士でSS結合していることから、このタンパク質は、C末が細胞膜に突き刺さった形で、細胞外に存在し、タンパク質-タンパク質相互作用を通して、細胞接着することで機能を発現していると思われる。本解析サンプルは、Somatomedin_B-like domain (25-64、SMB-like domain)と考えられる。このSMB-like domainに関する機能は完全に解明されていないが、本ドメインもドメイン内のCys同士でSS結合しており、また、vitronectin中に存在するSomatomedin_B domainは、PAI-1などのタンパク質との相互作用部位に位置し、タンパク質間相互作用に重要な意味を持つことから、本ドメインも類似の機能を持つと考えられる。本タンパク質の疾患関連情報は、私の調べる範囲では無いが、このようなドメインを持つタンパク質が癌抑制に関与しているという報告はある。また、細胞接着、補体系、サイトカインなどさまざまな生体システムにかかわることも予想される。構造は、ドメイン内に含まれる8個のCys残基が、1-4、2-8、3-7、4-5の組み合わせでSS結合している。二次構造としては短い2本のhelix構造があるのみである。	
505	LAG1 longevity assurance homolog 5	homeodomain	2CQX	on_hold		多細胞生物の発生に関与するタンパク質で、発生の初期段階で重要な働きをもつ。また、当該ドメインはDNA結合能を有し、転写制御に関与し、細胞の分化に関与する。DNAにモノマーか、ホモダイマーまたはヘテロダイマーで結合する。3つの $\alpha$ -ヘリックスからなるバンドル構造である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
506	PCCA (propionyl-CoA carboxylase alpha subunit)	zinc finger domain	2CQY	on_hold		全長タンパク質のプロピオニル-CoAカルボキシラーゼ(PCC)は、プロピオニル-CoAのカルボキシル化を触媒する酵素であり、生体内でのアミノ酸の代謝で重要な役割を果たしている。この酵素は2つのサブユニット、 $\alpha$ サブユニット(PCCA)および $\beta$ サブユニット(PCCB)で形成され、PCCAにはATP結合部位、PCCBには酵素活性部位が存在している。PCCAおよびPCCBはそれぞれ703残基と539残基で構成されている。解析したドメインは、プロピオニル-CoAカルボキシラーゼの $\alpha$ サブユニット(PCCA)に存在している。PCCAのATP結合には二つのドメイン(Aドメイン、Bドメイン)が関与すると考えられており、解析したドメインはBドメインに対応している。プロピオニル-CoAカルボキシラーゼをコードする遺伝子の変異は、プロピオン酸血症と呼ばれる代謝異常の原因となることが知られている。解析したドメインの構造は3本鎖逆平行 $\beta$ シートと、その側面に存在する2本の $\alpha$ ヘリックスで構成されている。ATP結合に関与する残基は3本鎖逆平行 $\beta$ シート上に存在している。	
507	nuclear distribution gene C homorog (NudC)	Nuclear_move domain	2CR0	on_hold		NudCはLis1と相互作用することで、大脳新皮質の発生段階で神経移動タンパク質として重要な役割を果たしている。また、正常または悪性のhematopoietic precursor cellにおいて多く発現しており、これらの細胞増殖に関わっている。この蛋白質は331残基であり、解析を行った108残基のコンストラクトはNudCのうち唯一ドメインとして認識されている部分である。Nuclear move domainとしては初めて解析した構造であるが、heat shock protein 90に対するco-chaperoneであるp23と構造の類似性があることが解析の結果わかった。7本のbeta-strandからなるサンドイッチ構造である。	
508	Speckle-type POZ protein; SPOP	MATH domain	2CR2	on_hold		Speckle-type POZ proteinは核内に斑点状に分布するタンパク質で哺乳類のメスのX染色体を不活性化させるヒストンのH2A1.2に結合すると報告されている。N末からMATHとBTBドメインの2つから構成され、ヒストン結合はMATHの部分にある。BTBドメインはホモダイマーもしくはヘテロダイマーを作る。構造解析したMATHドメインはTRAF(tumor necrosis factor receptor-associated factor)に相同性があり、タンパク質間相互作用の機能がある。得られた構造はbeta-strandリッチな immunoglobulin foldを取っていた。MacroH2A1.2にleucine zipperを介して結合するとの報告があるが、構造上に明確な leucine zipper構造はないことがわかった。	
509	Fibroblast growth factor receptor 1	ig (immunoglobulin) domain	2CR3	on_hold		Fibroblast growth factor受容体は四肢や頭部・顔面の骨、軟骨の分化形成に重要な役割を果たしている。FGF受容体を介したシグナリングは主に次の3つが知られている。1) ras G proteinとMAP kinase cascade, 2) phospholipase C系, 3) Stat1転写因子の活性化。GF受容体は細胞外の3つのigドメインと細胞内のTyr kinaseドメインからなる。今回構造解析されたのは第一番目のigドメインである。サイトカインFGFは2番目3番目のigドメインに結合する。受容体の活性化に必要な多量体形成にはFGFだけでなく細胞外マトリックスであるヘパリン・ヘパランとの結合が必要で、第一igドメインは多量体形成に関与する可能性がある。GF受容体1は四肢の変形や頭部・顔面の形成異常をともなうPreifffer症候群の原因遺伝子として知られている。ig foldを形成する7本の $\beta$ ストランドのうち4番目と5番目のストランドがともに2、3残基短くなった独特の構造をとっている。	
510	SH3 domain-binding protein 2	SH2 domain	2CR4	on_hold		全長タンパク質(SH3BP2)はN末端側よりPH、3個のプロリンリッチ領域、SH2ドメインよりなるアダプター蛋白質で、リンパ細胞においては、受容体刺激の情報を細胞内へ伝達する際形成される複合体の足場を作る働きを持つ。具体的にはPLC $\gamma$ 、Vav family蛋白質、PI3キナーゼ、Syk、Cbl、LAT等のチロシンキナーゼやシャペロンであり蛋白質間相互作用モジュレーターである14-3-3蛋白質等と相互作用し、細胞表面からの受容体からのシグナリングをコントロールしている。解析されたSH2ドメインは、チロシンのリン酸化を受けたPLC $\gamma$ 1、c-Cbl、LAT等のリンパ細胞のシグナリングに関係した蛋白質に結合し、転写の活性化に関与することが示されている。急性の骨破壊を主症状とするケルビム症の原因遺伝子と考えられている。第一 $\alpha$ ヘリックスと第4 $\beta$ ストランドで囲まれた塩基性領域、第4 $\beta$ ストランドと第5 $\beta$ -第6 $\beta$ 間のループおよび第2 $\alpha$ ヘリックス以降の長いループの3個所で囲まれた疎水性領域でリン酸化ペプチドを認識する。リン酸化Tyrは塩基性領域部分で認識される。	
511	reproduction 8/DOHSS2298E protein	UBX domain	2CR5	on_hold		Rep-8蛋白質(Reproduction 8)は精巣や卵巣に強く発現され、胚形成期において重要な役割を果たすと推定されている。Rep-8タンパク質中では唯一UBXドメインが同定されている。UBXドメインは80残基よりなる $\beta$ -grasp foldを持ったドメインで、通常、真核生物のタンパク質中のC端側に位置する。UBXドメインはユビキチン制御蛋白質やFAF-1にも見られる。	
512	obscurin	ig (immunoglobulin) domain	2CR6	on_hold		obscurinは筋原繊維の構築に関係し、分子内にig-likeドメイン37個、C2ドメイン18個、FNIIIドメイン2個、SH3、PH、RhoGEFを各1個ずつ持つ巨大タンパク質である。Z-diskやM線に結合したobscurinが筋小胞体に結合したankyrinと相互作用することにより筋原繊維と筋小胞体を規則正しく並べるのに役立っていると考えられている。解析されたig-likeドメインはN端より22番目のig-likeドメインである。構造解析の結果、計7本の $\beta$ ストランドからなる $\beta$ サンドイッチ構造を取り、第一 $\beta$ ストランドが前半と後半で別々のシートと $\beta$ シートを形成していることが明らかとなった。	
513	Paired amphipathic helix protein Sin3b	PAH	2CR7	on_hold		Paired amphipathic helix protein Sin3bはステロイドホルモン受容体等のリガンド依存性核転写因子のコリプレッサーであるN-Corやhistone deacetylase RPD3と複合体を形成し、ヒストン-DNA複合体を制御することにより転写抑制を行う。Paired amphipathic helix protein Sin3bは4個のPAHドメインを持つ蛋白質で、その1番目のPAHドメイン(PAH1)の構造解析を行った結果、4本の $\alpha$ ヘリックスからなるwedged helical bundle構造をとっていることが解った。PAH1はN-CorのC端側の領域と結合する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
514	Mdm4 protein	zf-RanBP domain	2CR8	on_hold		Mdm4蛋白質は癌抑制遺伝子でチェックポイント因子であるp53のアクチベータ活性を抑制する負の調節因子である。その調節メカニズムは、p53との直接相互作用による転写活性化ドメインへの結合とp300/CBPによるp53のアセチル化の阻害の二つが考えられている。Mdm2とのドメイン構成の類似性から、p53のE3 ubiquitin ligase活性を持つのではないかと予想されていたが、今では否定されている。Mdm4の局在や安定性はMdm2により制御されており、核への局在が機能発現には必須である。細胞ストレス条件下では、Mdm2依存的なMdm4の分解が起こるが、このためにはMdm4のリン酸化が重要である。上記機能からMdm4は癌遺伝子であることが推定されるが事実、正常なp53を持つがん細胞の30%でMdm4の過剰発現等の異常が観測されている。Mdm4はN端側からp53結合ドメイン、Acidicドメイン、zf-RanBPドメイン、RINGfinger-likeドメインより成り、本研究では、構造・機能がまだ明らかにされていないzf-RanBPドメインについて構造解析を行った。この構造は、zf-RanBPファミリーとして解かれた初めての構造である。正常なp53を持つがん細胞の30%でMdm4の過剰発現等の異常が観測されており、癌遺伝子である。この蛋白質は1個のZnを含有し、4個のCys側鎖が4面体型にZnを配位したZn結合様式を持っている。	
515	poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)	WGR domain	2CR9	on_hold		poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)は損傷したDNAの修復に関わる酵素のひとつ。活性部位の相同性から8種類のサブクラスが報告されており、本タンパク質はZinc-fingerを持つPARP-1である。PARP-1はDNAの損傷を感知しN末端の2つのZinc Finger部位によりDNAに結合する。また、C末端側の活性部位が、核内タンパク質(ヒストン、いくつかの転写因子、DNA修復因子、NF-κB、AP-2、Oct-1、YY1、p53、Topoisomerase I、Lamin B、B23など)をポリADPリボシル化する。ADPリボシル基は数十個から200個程度にまで重合し、ポリADPリボシル化したタンパク質は電荷が変化して機能を大幅に抑制される。逆に、poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG)とADP-ribosyl protein lyaseの二つのタンパク質がポリADPリボシルの分解を行う。例えばヒストンがポリADPリボシル化した場合、DNAとヒストンが分離しクロマチンの再構成、DNA修復、転写の制限が起こる。このようなメカニズムによりPARP-1は次のような機能を持っていると報告されている。1. DNA修復 2. 転写レベルでのさまざまなタンパク質の発現抑制 3. 複製と分化の抑制(p53, YY1, AP-2などの機能制御) 4. テロメラーゼ活性の抑制 5. ネクロシスによる細胞死の促進。構造解析されたWGRドメインはこの研究によりはじめて立体構造が明らかとなり、新規構造であることがわかった。	
516	homeobox protein HOX-B13	homeodomain	2CRA	on_hold		Hox蛋白質は一般的に、胎生初期の分化増殖の際の器官のパターンや位置を決定する因子として知られているが、そのうちHoxB13は分化の後期において、増殖の抑制やapoptosisを活性化する、成長の抑制因子として働く。今回解析したHoxB13はC末端にhomeoboxドメイン1個が同定されている。homeoboxは配列特異的にDNAに結合する。HoxB13蛋白質は前立腺がんに対してはがん細胞の増殖に対して抑制的働く。一方、乳がんに対しては悪性度の目安となる(発現が高いほど悪性度が高い)。3本のα-helixよりなる典型的なhomeobox構造である。	
517	Nuclear receptor binding factor-2	MIT domain	2CRB	on_hold		NRBF-2 (nuclear receptor binding factor-2)は、PPAR (ペルオキシソーム増殖因子活性化受容体)と相互作用することが知られている。PPARは脂質代謝に関わる遺伝子発現の制御を行っており、NRBF-2はPPARを活性化する因子として機能すると考えられる。NRBF-2の全長は約285残基で構成されており、配列相同性解析によってN末端側からMIT (microtubule-interacting and trafficking molecules)ドメイン、LXLLモチーフ、ロイシンジッパー・モチーフが存在していることがわかっている。NRBF-2のLXLLモチーフはPPARとの相互作用に関わると予測される。構造解析を行ったMIT (microtubule-interacting and trafficking molecules)ドメインは新規ドメインである。3本のalpha-helixで構成され、その3本のhelixがパッキングすることによってthree-helix bundle構造を形成している。	
518	Ubiquitin conjugating enzyme 7 interacting protein 3 (Hepatitis B virus X-associated protein 4) (HBV associated factor 4)	zinc finger domain	2CRC	on_hold		本解析タンパク質はUBE2L3/UBC4のようなE2ユビキチン付加酵素からユビキチンを受け取って基質に付加するE3ユビキチンリガーゼとして、或いはユビキチンE3複合体の一部として働くと考えられる。解析ドメインの機能もこれとまた同様である。このタンパク質がB型肝炎ウイルス関与性の肝臓癌の要因かもしれないという報告がある。この蛋白質は1個のZnを含有し、4個のCys側鎖が4面体型にZnを配位したZn結合様式を持っている。	
519	HEF-like protein	SH3 domain	2CRE	on_hold		他のドメインと相互作用することによって、シグナル伝達系成分の細胞内局在を変えたり複数タンパク質複合体形成を仲介する等、酵素の作用調整に関わる。2つの非常にきつく詰まった逆平行ベータシートからなる5本のベータストランド構造。シート1: 8-13残基。シート2: 31-36残基。シート3: 45-49残基。シート4: 54-58残基。シート5: 61-64残基。	
520	Ran-binding protein 3 (RanBP3)	RanBP1 domain	2CRF	on_hold		Ran-binding protein 3 (RanBP3)は約55kDのサイズを持つ蛋白質で、核外輸送蛋白質受容体Crm1のコファクターとして働く。すなわち、Ran・GTP - 輸送基質蛋白質複合体へのCrm1の結合を強め、核外輸送を強める機能を持つ。また、RanBP3は、Ran特異的グアニンヌクレオチド交換因子であり、クロマチン凝集制御因子でもあるRCC1とRan依存的に相互作用し、その酵素機能を高める一方、Ran共存下Crm1とRCC1の結合も強める。RanBP3はCrm1依存的核外輸送複合体の効率的形成のための、足場蛋白質である可能性がある。	
521	Metastasis associated protein MTA3	myb_DNA-binding domain	2CRG	on_hold		MTA3はMi-2、MBD3、HDAC1と結合し、Mi-2/NuRDヒストンデアセチラーゼの成分と考えられ、転写抑制因子として働く。乳がん細胞においてはMTA3の発現はERホルモン受容体によって制御される。またMTA3は、E-カドヘリンの転写抑制因子であるSnailの発現を抑制する転写調節因子として働く。MTA3はBAH、ELM2、Myb_DNA-binding (SANT)、ZnF_GATAの各ドメインよりなり、Myb_DNA-binding (SANT)ドメインについて構造解析を行った。Myb_DNA-bindingドメインは一般に複数のリポーターからなるDNA結合ドメインとして、SANTドメインは単独でも存在するMyb_DNA-binding様のドメイン知られている。構造解析の結果、本ドメインはDNA結合には向かない負の電荷を帯びた構造を取っており、DNA結合には関与しないSANTドメインであると考えられる。Myb_DNA-bindドメインに特徴的な3本のヘリックスよりなるcompact helix bundle構造を持つが、分子表面は大部分が負の電荷を帯びた構造を持つ。SANTドメインと考えられる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
522	vav 1 oncogene	SH2 domain	2CRH	on_hold		Vav 1はRho/Rac familyのグアニン交換因子として知られ、造血細胞特異的に発現される。この蛋白質は細胞外刺激を細胞内に伝達して細胞骨格形成のコントロール、各種脂質やキナーゼカスケードの活性化、分化・増殖のコントロール等の機能を果たす蛋白質群の最上流に位置する蛋白質の一つである。分子は下流への情報伝達に必要なN末端側に位置するCH、DH、PH、ZFドメインと上流の受容体またはそれに付随するキナーゼとの結合に関与するSH3-SH2-SH3ドメインよりなる。解析されたSH2はY(P04)XEP配列がコンセンサス配列として知られている。ただ実際には、よく知られた基質であるZap70/Syk kinaseにはYESP配列、CD19ではYEPE配列に結合する。解析された構造は基本的にSH2特有のβ <sub>1</sub> αββ <sub>2</sub> β <sub>3</sub> β <sub>4</sub> αフォールドを取っていた。さらに、C末端部分が第二βストランドに対して短い平行βシートを形成していることがわかった。	
523	Vesicle-associated membrane protein-associated protein A (VAMP-associated protein A)	MSP_domain	2CRI	on_hold		VAMP-associated protein AはC端側に膜貫通領域をもつ膜蛋白質で、小胞体やマイクロチューブに局在する。また、VAMP、Syntaxin-1A、BET1、SEC22C等のvesicleの融合や蛋白質輸送にかかわる蛋白質と相互作用できることから、vesicleの輸送にかかわると考えられている。VAMP-associated protein AはMSP-domainとcoiled-coil領域がドメインとして同定されており、MSP-domainについて構造解析を行った。MSP-domainはvesicleや蛋白質輸送にかかわる蛋白質内にあることが多く、マイクロチューブが輸送蛋白質と相互作用すると考えられる。9本のβストランドと1本のαヘリックスよりなるβサンドイッチ構造を持つ。1本のストランドをS字型に曲げるようにβ1とβ2間およびβ5とβ6間に保存されたcis-PROが存在する。また、β8とβ9間にαヘリックスが存在する。上記特徴はMSP-domainに特有の構造である。	
524	HMG domain protein HMG20B	HMG (high mobility group) box	2CRJ	on_hold		HMG domain protein HMG20BはBRAF-ヒストンデアセチラーゼ複合体(BHC)の一分成分であり、細胞分裂時の染色体輸送蛋白であるKiF4と結合できる。細胞分裂G2期からM期の正常な進展に不可欠な蛋白質である。本蛋白質にはHMG_boxとcoiled-coilドメインが同定されており、解析を行ったのはHMG_boxドメインである。HMG_boxはL字型の構造を取り、その内側に続くDNAを結合する。そのため、DNA複合体中ではDNAは鋭く折れ曲がった構造を取る。N端側の2本の短いヘリックスとそれに続く長いヘリックスがL字型に配置するHMG_box特有の構造を取っていた。	
525	Copper chaperone for superoxide dismutase	HMA domain	2CRL	on_hold		copper/zinc superoxide dismutase(SOD1)が極めて重要なタンパク質であるため、この研究と共にcopper chaperone for SOD1(CCS)の研究もされている。copper/zinc superoxide dismutase(SOD1)に対してcopperの供給を行うタンパク質。C末側のSOD1と相同性のあるドメインがSOD1とheterodimerをつくる。今回解析した構造は直接SOD1と相互作用しない。保存性の高いCYS2個でCuを結合する。Cu <sup>+</sup> の輸送対象であるタンパク質も同様のCYS2個を持っており、このCYS4つの間でCopperの交換を行う。CYSの酸化還元も同時に起こる。3 stranded anti-parallel beta-sheetとalpha-helixの2本。Cu <sup>+</sup> binding siteはalphaのN末端でCu <sup>+</sup> が結合する。	
526	Fibronectin type III domain containing protein 3(FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	2CRM	on_hold		全長タンパク質FNDC3(Fibronectin type III domain containing protein 3a)はN末端側のPro-rich領域に続いて9個のfibronectin type IIIドメインから成る膜蛋白質である。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b、CHC1L、LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が高い割合で起こることが知られている。構造解析を行ったのはそのうちの4番目のfn3ドメインである。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b、CHC1L、LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が高い割合で起こることが知られている。7本のβ-strandよりなるβサンドイッチ構造をとっている。特に最初と最後のβ-strandには大きなバルジ構造などの不規則な構造が混じったFNIII特有の構造が見られた。	
527	UBASH3A protein	UBA (Ubiquitin associated) domain	2CRN	on_hold		UBASH3AはN側よりUBA、SH3、HCDドメインより構成されており、主にT細胞などのリンパ細胞で発現されている。UBASH3Aは受容体型ロシキナーゼ抑制因子であり腫瘍抑制因子でもあるc-Cblのエピキチン化や分解を制御する役割を持ち、これによってc-Cblの機能を調節している可能性がある。また、マウスにおけるノックアウト実験より、UBASH3Aおよびその相同蛋白質であるstslの二重ノックアウトによりT細胞活性化が止められなくなることが示され、活性化の抑制因子と考えられる。	
528	regulator of G-protein signalling 5	RGS domain	2CRP	on_hold		Regulators of G protein signaling 5(RGS5)はC末側に1個のRGSドメインを持つ蛋白質で、(心臓)動脈平滑筋細胞で強く発現される。RGSドメインはG蛋白質のαサブユニットに結合し、GTPase活性を高め、カップルした受容体のシグナリングを負に制御することから、RGS5は心臓や動脈にて働くG蛋白質共役型受容体の働きを制御しているものと考えられる。また、腎臓がん巢の血管に強いRGS5の発現が報告されており、血管新生との関係が示唆されている。構造解析を行ったRGSドメインは9本のαヘリックスからなる立体構造を持ち、RGS4やRGS16のRGSとかなり類似した構造であることが明らかとなった。	
529	mitochondrial translational initiation factor 3	Peptidase_M10_N domain	2CRQ	on_hold		28Sと39Sの2つのサブユニットを結合させて55Sにする最初の段階に重要な働きがある。Eサイトに結合することが原核生物リボソームで報告されている。tRNAに似た立体構造をもっているため、EサイトにtRNAの代わりに結合するという報告がある。構造は、4 stranded beta-sheetで1本だけparallelであった。また、2本のalpha-helixを持っていた。Znの存在下で15N-HSQCに変化が見られるもの、明確に結合している部分は特定できなかった。アダプタータンパクのため全面が相互作用と思われる。しかし、結合相手が構造解析が難解なりボソームであるためか詳細な結合メカニズムは解明されていない。リボソームRNAに結合するものと思われる。strand1のK16とalpha1のK32、K34が保存性が高いのでこの部分が結合サイトかもしれない。	
530	SMAP1 (stromal membrane-associated protein 1)	ArfGap domain	2CRR	on_hold		SMAP1 (stromal membrane-associated protein 1)は赤血球を形成する器官内の間質細胞に存在している。造血器官内での赤血球形成活性とSMAP1の発現には相関があることが知られている。SMAP1は間質細胞と造血前駆細胞との相互作用を誘導するシグナル伝達系を制御していると考えられている。SMAP1の全長は約440残基で構成されており、配列相同性解析によってN末端側からArfGapドメイン、2個のKKD/E繰り返しユニット、type II membrane glycoproteinが存在していると推定されている。ArfGAPドメインは一般に、GTP結合タンパク質であるArf (ADP-ribosylation factor)の活性をコントロールすることによって膜輸送やアクチンの再構築を制御している。CXCCX16CXCタイプの配列で構成されるジグザグフィンガーモチーフを有し、亜鉛に結合することが知られている。構造解析されたArfGapドメインの中央には3本鎖逆平行βシートが存在し、このβシートの両側面を取り囲むように5本のαヘリックスが存在している。保存された4個のシステイン残基には亜鉛が結合している。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
531	Programmed cell death protein 5		2CRU	on_hold		アポトーシス細胞において細胞質から核内にprogrammed cell death 5が移動することで、phosphatidylserine externalizationやchromosome DNAの断片化が起こる。この現象はアポトーシス誘導刺激や細胞アポトーシスの種類に関係なく起こる。解析したドメインはDNAに結合し細胞死を誘導する。構造上の特性としては、three helices bundle型の構造で、N末側に1本helixがある。アミノ酸配列に相同性のあるMethanobacterium Thermoautotrophicum由来のMTH1615との構造比較の結果、二次構造のトポロジーは太筋で一致するもののturnの一部が異なる。DNA結合に必要なLYSやARGが多く表面に露出している。C末の構造をとっていない部分でDNAに結合するという報告がある。	
532	mitochondrial translation initiation factor IF-2	GTP_EFTU_D2 domain	2CRV	on_hold		fMET-tRNAと相互作用することが報告されている。translationの開始に必要な相互作用と思われる。構造はβ-barrelであった。類似構造があるもののループの長さが異なるなど、比較的新規性が高い。fMET-tRNAの核酸部分と結合すると思われるが、他のシークエンスとアライメントしても注目できる保存性は見つからない。表面で比較的、正の電荷が集中している部分(R42、K44、45、47、57)があり、この部分が結合部位の可能性がある。	
533	ADP-ribosylation factor GTPaseactivating protein 3	ArfGap domain	2CRW	on_hold		ArfGap3は現在のところN端のArfGapドメインのみが機能ドメインとして明らかとなっている516残基よりなる蛋白質で、内分泌腺や睾丸に発現が顕著である。この蛋白質は、ゴルジ装置近傍に局在し、コート蛋白質の会合に関与している。ArfGapドメインは、ベジクル被覆部形成をコントロールするArf (ADP ribosylation factor)に対するGAP (GTPase activating protein)として作用し、被覆形成を負に制御する。また、ArfGap3のGAP機能はリン脂質によってコントロールされている。構造解析されたArfGapは3本のβストランドが5本のαヘリックスにより挟まれた構造をとり、保存されたCys 4個からなるzf-モチーフを持っている。別のArfGapの構造との比較では、C末端側の短いヘリックスとループの配置や長いヘリックスがC末に追加されている点で違いが見られた。	
534	Kin of IRRE-like protein 3 precursor (Nephrin-like 2)	ig (immunoglobulin) domain	2CRY	on_hold		NEPH2 (KIRREL3)はN末端側に5個のimmunoglobulinドメインから成る細胞外領域とPDZドメインを含む細胞内領域から成る膜蛋白質である。一般に血球幹細胞の生存のためには各種増殖因子以外に、骨髄間質細胞が必要とされるが、この骨髄間質の生存因子がNEPH2である。膜蛋白質であるが、細胞外igドメインがプロテアーゼによって切り出されることにより作用すると考えられている。構造解析されたigドメインは5個あるigドメインのうちの5番目のドメインである。構造は、通常のig-foldに比べてβ3とβ4-strand間に短いβ-strandが二本挿入されていること、β5とβ6間に短いαヘリックスがある点で特徴的である。	
535	Fibronectin type III domain containing protein 3 (FNDC3)	fn3 (fibronectin type III) domain	2CRZ	on_hold		全長タンパク質FNDC3 (Fibronectin type III domain containing protein 3a)はN末端側のPro-rich領域に続いて9個のfibronectin type IIIドメインから成る膜蛋白質である。構造解析を行ったのはそのうちの5番目のfn3ドメインである。前立腺がん細胞においてFNDC3やITM2b、CHCLL、LOC511131を含む領域に欠損または顕著な発現低下が知られている。7本のβ-strandよりなるβサンドイッチ構造を取っていた。特に最初と最後のβ-strandには大きなバルジ構造などの不規則な構造が混じったFNIII特有の構造があった。	
536	Hematopoietic SH2 domain containing protein	SH2 domain	2CS0	on_hold		HSH2Cは血球細胞特異的に発現が見られ、cFESやACK等のTyr kinaseと結合するアダプター蛋白質として働く。B細胞においては、BCR-mediated apoptosisを抑制する機能を持つ。HSH2CはドメインとしてはN端側のSH2ドメインが同定されているのみである。解析されたSH2ドメインはcFESとの結合に関与している。第一αヘリックスと第四βストランドで挟まれた塩基性領域、第四βストランドと第五β-第六β間のループおよび第二αヘリックス以降の長いループの3箇所であまれた疎水性領域でリン酸化ペプチドを認識する。リン酸化Tyrは塩基性領域部分で認識される。	
537	PMS1 protein homolog 1 (DNA mismatch repair protein PMS1)	HMG (high mobility group) box	2CS1	on_hold		PMS1はDNA mismatch修復酵素のうち、損傷部位に結合しその情報を次の修復ステップ (helicase)に伝える働きをする蛋白質群のうちのひとつである。MLH1とヘテロダイマーを形成して、大腸菌におけるMutLと同じ働きをする。このヘテロダイマーは、DNA複製期と減数分裂期以外で働くと考えられる。PMS1にはDNA_mis_repairとHMG_boxがドメインとして同定されており、HMG_boxについて構造解析を行った。HMG_boxはL字型の構造を取り、その内側に沿ってDNAを結合する。そのため、DNA複合体中ではDNAは鋭く折れ曲がった構造を取る。T-cell白血病や前立腺がん等で顕著な発現低下が認められている。また、この蛋白質の変異により、遺伝性非ポリポーシス結腸・直腸がん (HNPCC)になりやすくなるという報告がある。N端側の2本の短いヘリックスとそれに続く長いヘリックスがL字型に配置するHMG_box特有の構造を取っていた。	
538	poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)	zf-PARP domain	2CS2	on_hold		poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)は損傷したDNAの修復に関わる酵素のひとつ。活性部位の相同性から8種類のサブクラスが報告されており、本タンパク質はZinc-fingerを持つPARP-1である。PARP-1はDNAの損傷を感知しN末側の2つのZinc Finger部位によりDNAに結合する。また、C末端側の活性部位が、核内タンパク質 (ヒストン、いくつかの転写因子、DNA修復因子、NF-κB、AP-2、Oct-1、YY1、p53、Topoisomerase I、Lamin B、B23など)をポリADPリボシル化する。ADPリボシル基は数十個から200個程度にまで重合し、ポリADPリボシル化したタンパク質は電荷が変化して機能を大幅に抑制される。逆に、poly (ADP-ribose) glycohydrolase (PARG)とADP-ribosyl protein lyaseの二つのタンパク質がポリADPリボシルの分解を行う。例えばヒストンがポリADPリボシル化した場合、DNAとヒストンが分離しクロマチンの再構成、DNA修復、転写の制限が起こる。このようなメカニズムによりPARP-1は次のような機能を持っていると報告されている。1. DNA修復 2. 転写レベルでのさまざまなタンパク質の発現抑制 3. 複製と分化の抑制 (p53、YY1、AP-2などの機能制御) 4. テロメラーゼ活性の抑制 5. ネクローシスによる細胞死の促進。解析を行ったのはtandem-aligned zf-PARP domainでsingleまたは二重鎖DNAに結合する。得られた構造は、N末からβ2-loop (Zn-binding region)-β3-β4-(Zn-binding region)-α1-loop-β1 (parallel with β2)-α2 (parallel with α1)であり、構造ホモロジー検索 (Dali)の結果から新規構造と予測される。Znの結合方法は構造的に典型的なCCHCタイプである。同じくわれわれが構造解析したシロイヌナズナ由来PARP1のzf-PARPドメインであるatr001011678.5-105と類似性があった。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
539	KIAA1865 protein chromosome 14 open reading frame 4(C14orf4)	zf-C3HC4 domain	2CS3	on_hold		KIAA1865蛋白質はC端のRING-fingerドメイン以外の大抵はGLNやALAの連続した領域を含むPro-richな領域からなるユニークな蛋白質である。この蛋白質は第14染色体の不整脈源性右室異形性critical regionとよばれる位置に存在し、心臓に多く発現される。解析されたドメインは2本のヘリックスとβシートを含み、亜鉛2個と結合している典型的なRING fingerモチーフ構造をとっていることがわかった。	
540	Protein C12orf2	RA domain	2CS4	on_hold		全長タンパク質は、まだ詳細は解っていないが上皮性悪性腫瘍に関連するタンパク質である。RAドメインとしての一般的な機能はRasGTP effectorである。ubiquitin foldではあるが典型的なRAドメインで、ubiquitinに比べbeta sheetが反り返っている。RasGTPが結合すると思われるので、どこかに結合サイトがあると予測される。	
541	Tyrosine-protein phosphatase, non-receptor type 4	PDZ domain	2CS5	on_hold		PTPaseと酵素活性ドメインに相同性があるが、non-receptor typeである。膜貫通レセプターや細胞骨格を構成する要素などのタンパク質と相互作用する。このような機能から、このPTPaseもreceptor type同様、膜外のシグナルを内部に伝える機能を果たしていると考えられる。PDZドメインは一般的な機能として膜タンパク質のC-末端のペプチド4残基を認識して結合する事がわかっている。今回解析したPDZがどのタンパク質を認識するかは不明。おそらく、このPDZドメインが重要なシグナル伝達に関わっていると思われる。peptide binding siteのPDZドメイン間での保存性は高い。典型的なPDZドメイン。ペプチドが結合する。	
542	ST18 (suppression of tumorigenicity 18)	zf-C2HC domain	2CS8	on_hold		ST18の遺伝子は乳癌腫瘍の中では欠損していることがわかっており、ST18は乳癌腫瘍の抑制に重要な役割を果たすタンパク質として2004年に同定された。ST18はC2HC型のジンクフィンガードメインを6個含んでいるため、ST18は転写制御因子として機能するDNA結合タンパク質である可能性が高い。ST18の全長は約1050残基で構成されており、配列相同性解析によってN末端側から2個のC2HCドメイン、SMCドメイン、4個のC2HCドメインが存在していることがわかっている。本研究ではST18の5番目と6番目のC2HCドメインの解析を行った。一般にC2HCドメインはDNAに結合することが知られている。ST18は乳癌腫瘍の抑制に重要な役割を果たしていると考えられている。解析した2個のC2HCドメインは同じフォールドをしており、それぞれのドメインに1個の亜鉛イオンが配位している。亜鉛結合部位は3個のシステイン残基と1個のヒスチジン残基によって形成されており、本ドメインの構造安定性に寄与している。ドメインのC末端にはαヘリックスが存在している。今回の構造解析の結果、本ドメインにαヘリックスが存在することが初めて明らかとなった。一般にDNA結合タンパク質はαヘリックスによってDNAに結合することが多く、本ドメインのC末端に存在するαヘリックスがDNA結合に関与する可能性がある。	
543	DNA-binding protein SATB2 (Special AT-rich sequence-binding protein 2)	CUT domain (DNA-binding domain)	2CSF	on_hold		全長タンパク質はSATBドメイン、2つのCUTドメイン、ホモオドメインの4つのドメインを持つ。SATB2はpre-B cellの免疫グロブリンμ locusのnuclear matrix attachment region(MARS)に結合し、遺伝子発現を増強することが知られている。CUTドメインはホメオボックスとともに働いてMAR (Nuclear matrix attachment region) sequencesと結合する。口蓋裂症(CPO: cleft palate only)との関連についても指摘されている。解析されたCUTの構造はコンセンサスCUT構造のC端にもう一本ヘリックスが追加した構造をとっている。	
544	Homo sapiens zinc finger protein 297B	zf-C2H2 domain	2CSH	on_hold		zinc finger protein 297BはBTBとタンデムに3個つながったzf-C2H2ドメインを持つ蛋白質である。核に局在する傾向があり、2重化ドメインであるBTBとDNA結合ドメインであるzf-C2H2を持つことから転写因子として働いていると予想されている。構造解析された蛋白質はzf-C2H2が3個つながったコンストラクトであり、1本のαヘリックスと2本の逆平行βストランドからなる典型的なzf-C2H2構造3個が独立して存在していた。	
545	KIAA0318 protein RIM-binding protein 2	SH3 domain	2CSI	on_hold		RIM binding protein(RBP)はRab3-interacting molecule(RIM)と電位依存性Ca <sup>2+</sup> チャンネル間を橋架けのように結合する。この機能はシナプス小胞の活性化に関与している。解析されたSH3ドメインは3番目のSH3ドメインで、内耳にある電位依存性Caイオンチャンネルと相互作用する。このSH3ドメインは、RT-loopが他の典型的なSH3ドメインより長く、全体的にも特徴的なβ-バレル構造が崩れている。	
546	TJP2 (tight junction protein 2)	PDZ domain	2CSJ	on_hold		タイトジャンクションは、上皮細胞シートや内皮細胞シートにおいて細胞間を接着する装置として機能しており、その主要成分は膜タンパク質ClaudinとOccludinである。解析したドメインが由来するTJP2 (tight junction protein 2)は、このタイトジャンクションを構成するClaudinに直接結合することが知られている。TJP2の全長は約1165残基で構成されており、配列相同性解析によってN末端側から3個のPDZドメイン(PDZ1、PDZ2、PDZ3)、SH3ドメイン、GUK (guanylyl-kinase-like)ドメインが存在していることがわかっている。TJP2のPDZ1ドメインはClaudinのC末端に結合し、TJP2のC末端領域はアクチンフィラメントに結合することが知られている。これらのことからTJP2はタイトジャンクションの細胞質側に局在化し、細胞の形態形成に重要な物質をタイトジャンクションに集積させる役割を果たしていると考えられている。本ドメインはTJP2のN末端に存在するPDZ1ドメインであり、ClaudinのC末端に結合することが知られている。本ドメインの1残基の変異は、アマン派の家系の人たちにみられるFHC (familial hypercholestanemia)という病変(胆汁酸の濃度増加、そう痒、脂肪の吸収不良が特徴)に関連していることがわかっている (Carlton et al. (2003) Nat. Genet. 34, 91-6.)。本PDZドメインは6本のβストランド(βA~βF)と2本のαヘリックス(αA、αB)で構成されている。ストランドβBとヘリックスαBの間の溝にClaudinのC末端が結合すると考えられる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
547	SNX12 (sorting nexin 12)	PX domain	2CSK	on_hold		SNX12 (sorting nexin 12)は、SNX (sorting nexin)ファミリーに属するタンパク質である。SNXファミリーのタンパク質は一般に細胞内輸送に関係している。SNX12の全長は約160残基で構成されている。配列相同性解析の結果、このタンパク質には1個のPX (phox)ドメインが存在することがわかっている。SNXファミリーのタンパク質の中にはタンパク質-タンパク質相互作用に重要であるコイルドコイル領域を持つものもあるが、SNX12にはそのようなコイルドコイル領域は見つかっておらず、1個のPXドメインだけからなるタンパク質であると考えられている。PXドメインは、一般にホスホイノシチドに結合する機能があるため、細胞内では膜に結合すると予測される。ドメインのN末端側には3本のβストランド(β1、β2、β3)からなる3本鎖逆平行βシートが存在し、C末端側には4本のαヘリックス(α1、α2、α3、α4)で形成されるヘリックスバンドル状の構造が存在している。α1とα2をつなぐループは塩基性残基とプロリン残基に富んでおり、基質であるホスホイノシチド結合部位が存在していると考えられる。今回の構造解析の結果、この基質結合部位は基質が存在しない状態では特定の構造を形成していないことがわかった。ヘリックスα1、α2、および、α1とα2つなぐ長いループで形成される構造にホスホイノシチド結合部位が存在すると予測される。	
548	Pleckstrin, Platelet p47 protein	DEP domain	2CS0	on_hold		Pleckstrinは外界刺激に対する細胞内メッセンジャーによって活性化されるプロテインキナーゼCの代表的基質で、血小板や白血球に存在する。Pleckstrinの機能に関係するリン酸化部位はN末のPH domainとDEP domainの間に存在する。PleckstrinのDEP domainは、N末のPH domainと分子内相互作用をし、Pleckstrinの機能に関係するリン酸化部位を立体的にブロックすることでリン酸化を調節している。αββααββ構造をとり、C端のβ-strand間に短いα-helix (H4) が挿入されている。また、N端のβ-sheet構造はβ-hairpin arm と名付けられている。三本のヘリックスは、three-helix bundleと呼ばれる hydrophobic core を形成している。	
549	KIAA0318 protein RIM-binding protein 2	fn3 (fibronectin type III) domain	2CSP	on_hold		このタンパク質は RIM binding protein(RBP) と呼ばれ、Rab3-interacting molecule(RIM) と電位依存性Ca <sup>2+</sup> チャンネル間を橋架けのように結合する。この機能はシナプス小胞の活性化に関与している。N末端にありRIMと結合するSH3ドメインと、C末端にあるカルシウムイオンチャンネルと結合するSH3ドメインを繋いでいる。βsheetが向かい合うβサンドイッチ構造をとっている。	
550	KIAA0318 protein RIM-binding protein 2	SH3 domain	2CSQ	on_hold		RIM binding protein(RBP) はRab3-interacting molecule(RIM) と電位依存性Ca <sup>2+</sup> チャンネル間を橋架けのように結合する。この機能はシナプス小胞の活性化に関与している。解析されたSH3ドメインは2番目のSH3ドメインで、内耳にある電位依存性Caイオンチャンネルと相互作用する。このSH3ドメインは、RT-loop が他の典型的なSH3ドメインより長く、全体的にも特徴的なβ-parallel構造が崩れている。	
551	Rab3-interacting molecule 1 (RIM 1)	PDZ domain	2CSS	on_hold		Rim1は神経伝達物質の放出のトリガーとして神経終末へ流入するCa <sup>2+</sup> 濃度の上昇を感知するCa <sup>2+</sup> センサータンパク質の一つで、脳と網膜のプレシナプス膜のアクティブゾーンに局在化する。Rim1はシナプス小胞上にありGTP結合タンパク質のシナプス可塑性に関与しているRab3AをはじめとするこれらのRim結合タンパク質をアクティブゾーン近傍につなぎとめる役割を果たしている。そこで、これらのタンパク質とこれらのタンパク質を介したタンパク質複合体の形成がシナプス小胞のターゲティングや小胞膜融合の調節にも関わっている可能性も示唆されている。Rim1はN末からRab3A binding site に続いてzinc-finger domain、シナプスのタンパク質によく見られるPDZ domain、C末にはSH3結合domainをはさんで二つのC2 domainがある。RIM1はPDZドメインを欠失するとシナプスへの濃縮パターンがみられなくなるためPDZ domainは特定モチーフを認識し、RIM1の局在化に寄与していると考えられる。	
552	Tripartite motif protein 29 (Ataxia-telangiectasia group D-associated protein)	B-box	2CSV	on_hold		Ataxia-telangiectase (AT, 毛細管拡張性運動失調)は、常染色体劣性遺伝病で癌等の様々な疾患の原因となる。電離放射線に高感受性を示し、細胞周期の異常や、異常な細胞骨格組織を生じる。AT gene の候補 (ATDC)はAT group D 繊維芽細胞の電離放射線感受性に基づいて単離された。TRIM29は二つの zinc finger domain B-box type1、B-box type2 と coiled-coiled region からなる。ここで解析されたドメインはその配列から B-box type2 に相当する。TRIM family は各々が局在化する部位が異なるが、共通のドメインであるB-box もこの認識に関係している。TRIM proteins の配列に基づく分類で、B-box 2 に分類されるzinc finger domain、2個の亜鉛に結合し、N末側のZn配位残基はCysHisCysCysでC末側のZn配位残基はCysAspHisHisであり、βββαα構造を持つ。亜鉛にAspが配位している構造に特徴がある。	
553	Ubiquitin ligase protein RNF8 (RING finger protein 8)	FHA domain	2CSW	on_hold		RING finger protein RNF8は、クラスIIIのubiquitin conjugating enzyme (E2s)と相互作用し、ユビキチンリガーゼとしての機能を持つことが知られている。また最近、ステロイドホルモン受容体の一つであるRXRα核内受容体に結合し、転写活性化能を正に調節する働きを持っていることが明らかになった。RNF8にはN端側のFHAとC端側のRING fingerドメインの2つのドメインが同定されており、構造解析を行ったのはFHAドメインである。FHAドメインは一般に、リン酸化Thrを含むペプチドを結合する。本FHAドメインはC末端側のRING fingerドメインとともにRXRα受容体に結合し、転写調節に関与している。RNF8は肝癌の増殖抑制能やapoptosis活性を持つRXRα核内受容体の活性を強めることから、肝癌の治療ターゲットの一つになると考えられる。基本的に11本のβ-strandよりなるFHA特有のβサンドイッチ構造を取っていた。FHAドメインの構造は蛋白質によってβ-strandやループの長さが異なり見かけ上は異なって見えるが、特に保存されたHisを含むbinding部位周辺の構造はよく保存されていた。	
554	Zinc finger protein 183-like 1 (RING finger protein 161)	Ring finger domain	2CSY	on_hold		RINGフィンガードメインを含むタンパク質で、ubiquitin-protein ligase activityを示す可能性がある。ユビキチンプロテアソーム系のE3として機能している可能性がある。二本のヘリックスと3本のストランドからなるRINGフィンガーフォールドである。二個の亜鉛と結合する金属結合タンパク質である。	
555	Synaptotagmin-like protein 4	Ring finger domain	2CSZ	on_hold		Synaptotagmin-like protein 4 (Slp4)/granuphilin-aはN末にSlp homology domain (SHD)を含む。Slp4のSHDはGTP結合型のRab3A、Rab8、Rab27Aへ、直接特異的な結合をする。今回はN末ドメインを解析した。このドメインはRab3A、Rab8、およびRab27Aと結合する。一本のヘリックスと4本のストランドからなるRINGフィンガーフォールドである。二個の亜鉛と結合している金属結合タンパク質である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
556	Non-SMC (Structural maintenance of chromosomes) element 1 protein	RING domain	2CT0	on_hold		Structural maintenance of chromosomes (SMC) proteinsはクロモソームの編成と動態に関して中心的な役割を持つ。これまでにSMC1からSMC6と呼ばれる6つのサブタイプに分類され、SMCでないタンパク質もいくつか含む大きなタンパク質複合体においてヘテロダイマーのコンポーネントとして機能する。RINGフィンガー構造を有していることからユビキチンプロテアソーム系のE3として機能している可能性がある。一本のヘリックスと二本のストランドからなるRINGフィンガードメインである。二つの亜鉛と結合している金属結合タンパク質である。	
557	Transcriptional repressor CTCF	zf-C2H2 domain	2CT1	on_hold		全長タンパク質であるTranscriptional receptor CTCFは、H19に結合し、卵母細胞の成長期のde novo metylationから保護して、着床前の発達に関与している。今回解析したドメインは核酸と結合するzinc finger domainの構造と類似している。核酸と結合する可能性あり。一本のヘリックスと二つのストランドからなるZinc fingerフォールド構造。これがタンデムに二個存在している。このZinc fingerは1つの亜鉛と結合する金属結合タンパク質である。	
558	Tripartite motif protein 32	Ring finger domain	2CT2	on_hold		全長タンパク質のTripartite motif protein 32は、N末端にC3HC4 zinc finger motifを持つことから、転写因子、核酸結合タンパク質、がん遺伝子産物などを含むRINGフィンガーファミリーの一員である事がわかる。RFP、PML、T18、RPT1、Ro自己抗原を含むRINGフィンガーサブファミリーともっとも類似性が高い。今回解析したドメインは全長タンパク質のN末に存在しているRINGフィンガーである。RINGフィンガーはユビキチンプロテアソーム系のE3として機能していると考えられる。このタンパク質はSarcotubular myopathyに関与している。これは筋緊張低下があり、多くは歩行を獲得するが、以後も筋力低下が持続する疾患である。Myotubular myopathyは比較的良性的経過をとる常染色体優性(劣性もある)と、乳児期から重篤な症状をとるX連鎖劣性遺伝をとるものが知られている。構造は、1つのヘリックスと3本のストランドからなるRINGフィンガーFOLDを有する。二つの亜鉛と結合する金属結合タンパク質である。	
559	SCAM-1 protein	SH3 domain	2CT3	on_hold		全長タンパク質であるvinexin alpha および beta は、NIH 3T3 繊維芽細胞で発現すると局所接着部位に局在し、また、上皮LLC-PK1 細胞で発現すると細胞間接着部位に局在する。さらに、このタンパク質が発現することにより局所接着性が増大する。vinexin alphaはアクチン張力繊維形成を促進する。一方vinexin betaを発現させた細胞系では細胞増殖が促進された。vinexinは局所接着および細胞間接着に関わるタンパク質であり、vinculinのヒンジ領域にSH3ドメインを介して結合する。この結合によりアクチンによる細胞骨格の形成や細胞増殖が促進される。vinexinとvinculinとの結合には、vinexinの二つのSH3ドメインとvinculinのプロリンに富む領域が関与している。解析したドメインは、5本のストランドと一本のヘリックスからなる構造をとっており、既知のSH3ドメインの構造と類似している。	
560	Cdc42-interacting protein 4	SH3 domain	2CT4	on_hold		全長タンパク質は2個イオン輸送システムを調節する事で塩耐性に関わっているのではないと思われる。多くのSH3ドメインはタンパク質-タンパク質相互作用に関与しており、今回解析したSH3ドメインも同様の機能を有している可能性あり。構造は、一本のヘリックスと5本のストランドからなるSH3フォールドである。	
561	DREF transcription factor	zf-BED domain	2CT5	on_hold		Drosophilaにおいて、DNA複製と細胞増殖に関わる遺伝子の発現を制御している因子・DREFのヒトホモログ(hDREF/KIAA0785)である。hDREF/KIAA0785は細胞増殖に関わるヒトの遺伝子発現を制御する役割を持っている可能性がある。このzinc-fingerはDREFのようにDNA配列を認識するかもしれない。3本のヘリックスと3本のストランドからなる新規フォールドである。1つの亜鉛と結合する金属結合タンパク質である。	
562	SH3BGR(SH3 domain-binding glutamic acid-rich-like protein)	SH3BGR domain	2CT6	on_hold		本タンパク質はほぼ全長で、TIP-B1とよばれ、新規のTNF inhibitory proteinである。TNFにより誘導されるアポトーシス性の溶解を防ぐ機能を有している。TIP-B1は4つstrandと2つのhelixからなるレドキシンfoldを有しているにもかかわらず、レドキシンの活性部位が存在しないことから、これまでに類を見ない分子メカニズムにより生理活性を示す。本タンパク質はトリソミーに関わっていることが示唆されており、本解析はダウン症の治療薬の開発に繋がるものと期待できる。構造は、4本のヘリックスと4本のストランドからなるレドキシンフォールドである。	
563	ISGF-3	IBR (In Between Ring fingers) domain	2CT7	on_hold		ISGF3はインターフェロン依存性のポジティブな転写制御因子であり、細胞質中で活性化されインターフェロン受容体と直接相互作用する可能性がある。ある特定の細胞膜受容体へのインターフェロンαの結合は、IFN-stimulated genesと呼ばれてる一群の遺伝子を活性化する。IBRはパーキンソン病に関わるparkinにも含まれており、本解析は、そのような難治疾患の病因に理解に役立つものと期待される。また、インターフェロンにより制御される因子なので、ウイルス感染に関する知見も得られる物と考えられる。構造は、二本のヘリックスと四本のストランドからなる新規フォールドである。亜鉛と結合する金属結合タンパク質である。	
564	Zinc finger protein 512	zf-C2H2 domain	2CTD	on_hold		全長タンパク質は、534残基で既知のドメインとしてzf-C2H2が4つほど予測されている。本研究で解いたものは、N末端側にある二つのドメインである。全長タンパク質に関する詳細な情報は存在しないが、zf-C2H2は、核酸結合などを持つドメインとして知られているので、このタンパクもそのような機能に関連している可能性は、高い。zf-C2H2は、核酸結合ドメインとして知られる亜鉛結合ドメインである。二つのzf-C2H2ドメインが存在し、ドメイン間相互作用は存在しないようだ。N末端側のzf-C2H2ドメインは、亜鉛とCCHCで結合しており、N末端に3巻きヘリックスが存在している。C末端側のzf-C2H2ドメインは、典型的な構造である。	
565	Vigilin	KH_1 domain	2CTE	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは1番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。構造は、3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
566	Vigilin	KH_1 domain	2CTF	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは4番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合が知られており、結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	
567	Vigilin	KH_1 domain	2CTJ	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは8番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合が知られており、結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	
568	Vigilin	KH_1 domain	2CTK	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは12番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。構造は、3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	
569	Vigilin	KH_1 domain	2CTL	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは13番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。構造は、基本的に3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。また、N末に短いヘリックスが付加されている。	
570	Vigilin	KH_1 domain	2CTM	on_hold		全長タンパク質は14個のKH_1ドメインが存在している。本研究で解析したものは14番目のKHドメインである。Vigilinは、tRNAの核-細胞質移送やそれに続くリボソームとtRNAとの会合に関与していることが知られている。RNAとの結合部位は、2本のショートヘリックスが屈曲した部位であることがわかっている。3本のβストランドと3本のαヘリックスからなる。	
571	Hypothetical protein FLJ14904	HMG box like domain	2CTO	on_hold		HMG_boxドメインは、転写因子として知られている。これまで解析を試みてきた別の転写因子であるhomeoboxドメインとの共通点も多く、これとの比較も興味深い。この全長タンパク質は、機能未知だが、Blast Expect = 5e-06, Identities = 58/315 (18%)のタンパク質“CG11254-PA, isoform A”および“CG11254-PB, isoform B”は、卵形成時の細胞骨格の局在や体軸の形成に重要な役割を果たしていることが報告されている。今回の全長のタンパク質にSMART、p-famデータベースより予測されたドメインは、存在しない。今回、このタンパク質のN末端の1-80にHMG_box様のドメインが存在することが明らかになった。今後このドメインの存在を手がかりに機能が解明される可能性が高い。今回構造解析をした結果、今回のドメインはHMG_box likeドメインであることがわかった。通常、HMG_boxは、DNA結合を担うドメインであることが知られており、3本のヘリックスによるヘリックス-スーター-ヘリックスモチーフを持っている。相互作用部位としてC末端ヘリックスとN末端領域が平行に配置した部分であることが知られているが、今回解析した構造では、そのような部分は見られなかった。このことより、DNA結合とは違う機能を有していると考えられる。ショートヘリックス4本とC末端に長いヘリックス(8巻きぐらい)が存在する。構造モチーフは、ヘリックス-スーター-ヘリックスである。	
572	DnaJ homolog subfamily B member 12	J-domain	2CTP	on_hold		細胞内における新生タンパク質の折りたたみ反応あるいは熱ショックストレスなどにより変性したタンパク質の巻き戻り反応を介助あるいは制御する機能を有することで知られるシャペロンタンパク質。J-domainはHsp70ファミリープロテインとの相互作用およびHsp70プロテインのATPアーゼ活性の制御に関与している。DnaJ3はDnaJファミリーの中でサブファミリー-Bに相当し、さらに細かい分類上ではメンバー12に該当する。現在までに発表されているDnaJファミリープロテインと非常によく似た三次構造を有する。4つのヘリックスのうち、2番目と3番目の長いヘリックスによって形成される逆平行ヘリックスバンドル構造が1番目の短いヘリックスによってパッキングされ安定化されている。配列上最も保存性が高く、かつ活性に最も重要と思われる配列、His-Pro-Aspを含む2番目と3番目のヘリックス間に存在するループ構造が他のJ-domainと非常によく似ている。	
573	DnaJ (Hsp40) homolog subfamily C member 12	J-domain	2CTQ	on_hold		DnaJファミリープロテインは細胞内における新生タンパク質の折りたたみ反応あるいは熱ショックストレスなどにより変性したタンパク質の巻き戻り反応を介助あるいは制御する機能を有することで知られるシャペロンタンパク質の1つである。J-domainはHsp70ファミリープロテインとの相互作用およびHsp70プロテインのATPアーゼ活性の制御に関与している。DnaJ4はサブファミリーCに該当し、さらに細かい分類上ではメンバー12に属する。現在までに発表されているDnaJファミリープロテインと非常によく似た三次構造を有する。4つのヘリックスから構成され、2番目と3番目の長いヘリックスによって形成される逆平行ヘリックスバンドル構造が1番目の短いヘリックスによってパッキングされ安定化されている。活性に最も重要と思われる配列、His-Pro-Aspを含む2番目と3番目のヘリックス間に存在するループ構造が他のJ-domainと非常によく似ている。	
574	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily B, member 9	J-domain	2CTR	on_hold		DnaJファミリープロテインは細胞内における新生タンパク質の折りたたみ反応あるいは熱ショックストレスなどにより変性したタンパク質の巻き戻り反応を介助あるいは制御する機能を有することで知られるシャペロンタンパク質の1つである。J-domainはHsp70ファミリープロテインとの相互作用およびHsp70プロテインのATPアーゼ活性の制御に関与している。DnaJ5はDnaJファミリーのサブファミリーBに属し、更に細かい分類上ではメンバー9に相当する。立体構造はDnaJファミリーに特徴的な4つのヘリックスから構成されている。2番目と3番目の長いヘリックスによって形成される逆平行ヘリックスバンドル構造が1番目の短いヘリックスによってパッキングされ安定化されている。活性に最も重要と思われる配列、His-Pro-Aspを含む2番目と3番目のヘリックス間に存在するループ構造が他のJ-domainと非常によく似ているため、DnaKファミリータンパク質との相互作用が予測される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
575	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily A, member 3	Zinc finger domain	2CTT	on_hold		微生物界から脊椎動物界にいたる広範囲の生物種に見出されるDnaJファミリータンパク質の1種。サブファミリーA、メンバー3に属するDnaJホモログ。N末端側にJドメイン、C末端側にZnフィンガードメインをもつ典型的なDnaJタンパク質群に未だされるドメイン構成を有する。新生タンパク質あるいは熱ショックストレスなどにより変成したタンパク質巻き戻り反応を介助するシャペロンタンパク質としての機能が予測される。Tumorous imaginal discs protein (Tid56)との配列相同性から、ミトコンドリアマトリックス中でのアポトーシスシグナル伝達制御に関わっている可能性がある。DnaJタンパク質群におけるZn fingerドメインの役割は不明な点が多いが、DnaJがリボソームRNAと相互作用するという知見や、Zn fingerドメインに塩基性アミノ酸残基が多く含まれることから、RNAとの相互作用が予想される。疾患関連情報は特に見出しなかった。2つのC4 Zn finger モチーフを持つβシートリッチなタンパク質である。6個の逆平行βシートが見出された；29-30、46-47、56-61、64-69、78-79、92-93。特に3番目と4番目のシートによりβヘアピン構造が形成されている。2つのZn結合部位があり、それぞれCys48、Cys51、Cys70、Cys73 (Zn1)およびCys31、Cys34、Cys84、Cys87 (Zn2)が2つのZn原子に配位している。全体としての字に曲がっており、Zn1周辺が屈曲部位になっている。興味深いことにZn1周辺は塩基性アミノ酸残基が集中しており、核酸などとの相互作用が予想される。	
576	Zinc finger protein 483	Zinc finger domain	2CTU	on_hold		Zinc finger タンパク質群との配列相同性から、Zn finger 483という命名がなされている。Krueppel-associated box (KRAB) との相同性配列を含むことから、RNAポリメラーゼI, II, IIIプロモーターの転写抑制が機能として推定できる。Zinc finger ドメインとして推定される領域に塩基性残基を多く含むことも全長タンパクが転写制御に関わっていることを示唆するものである。C4型のZinc fingerドメインであり、多くの塩基性残基を含んでいることからDNAあるいはRNAとの相互作用が主な活性と推定される。疾患関連情報は特に見出しなかった。極めて小さなC4型Zinc fingerフォールド。短い逆平行βシート構造が18-20 (Sheet1)、27-29 (Sheet2)に見出される。10残基程度の塩基性残基が集中するループ31-41にあり、短いαヘリックス構造が43-47に見出される。一つのZn原子がCys21、Cys24、Cys42、Cys45に配位している。	
577	DnaJ (Hsp40) homolog, subfamily C, member 5	J-domain	2CTW	on_hold		微生物界から脊椎動物界にいたる広範囲の生物種に見出されるDnaJファミリータンパク質の1種。サブファミリーC、メンバー5に属するDnaJホモログ。N末端側にJドメイン、C末端側にZnフィンガードメインをもつ典型的なDnaJタンパク質群に未だされるドメイン構成を有する。新生タンパク質あるいは熱ショックストレスなどにより変成したタンパク質巻き戻り反応を介助するシャペロンタンパク質としての機能が予測される。大腸菌由来のJドメインはDnaKとの相互作用によりDnaKのATPアーゼ活性をプロモートする機能が知られており、本タンパク質との配列の相同性から同様の機能が予想される。従来知られているJドメインより1本多い、6本のαヘリックスで構成されている。DnaJ7は大きく分けて2つのサブドメインに分けることができる；サブドメイン1は3つのヘリックス、19-23 (Helix1)、31-44 (Helix2)、54-70 (Helix3)、およびサブドメイン2は3つのヘリックス73-81 (Helix4)、84-92 (Helix5)、97-103 (Helix6)。他のJドメインとは異なり、Helix2上に塩基性アミノ酸残基のクラスターが見出しえない代わりに、Helix1上に塩基性クラスターが存在する。Jドメインに共通に見出される配列、His46-Pro47-Asp48は典型的なターン様構造を形成しており、化学シフトデータはHis46-ND1とAsp48-HNとの間に水素結合が形成されている可能性を強く示唆している。	
578	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 2	PB1 domain	2CU1	on_hold		MAPキナーゼ(Mitogen-activated protein kinase)カスケードは重要な細胞内情報伝達経路であり、幾つかのファミリーから成ることが知られている。MAPキナーゼカスケードは、タンパク質中のセリン/スレオニンリン酸化するMAPキナーゼ(MAPK)、MAPKをリン酸化して活性化するMAPキナーゼ(MAPKK)及びMAPKKをリン酸化して活性化するMAPKKキナーゼ(MAPKKK)よりなるキナーゼカスケードで、大きく分類すると、増殖因子などによって活性化されるERK経路と、ストレスやサイトカインによって活性化されるストレス応答MAPK経路とがある。哺乳類細胞が、浸透圧や紫外線、熱、放射線、酸化、重金属などのストレス刺激にさらされると、ストレス応答性MAPキナーゼ経路と呼ばれる情報伝達経路が活性化され、生理的応答反応を引き起こすことが知られている。炎症性サイトカインによる経路の過剰な活性化は、難病も含めた種々の炎症性疾患や、敗血症、ショック、卒中、慢性循環器障害、免疫疾患、癌などの病理的反応にも深く関わっている。解析したPB1 domainはキナーゼのN末にあり、ERK5 活性経路ではERK5のPB1ドメインと相互作用し、活性化する。ユビキチンフォールドの構造を持つ。長いβ-strand 4本と短いβ-strand 1本でβ-sheetを作る。β-sheet上にα1、β-sheetの端にα2-Helixが存在し、2本のHelixは約90度の角度を成している。	
579	KIAA1915 protein	SANT domain	2CU7	on_hold		このKIAA1915-SANTは、KIAA1915 proteinであり、Transcriptional adaptor 2-likeと同様なドメイン構成をもつ。このタンパク質も転写に関与すると推測される。今回解析したKIAA1915-SANTはKIAA1915 proteinのN末端側にあるSANTドメインである。Transcriptional adaptor 2-likeのSANTドメインはヌクレオソーム相互作用に重要であることが報告されている。また、SANTドメインはDNA結合ドメインであることが知られている。構造は典型的なSANTドメインである。	
580	Cysteine-rich protein 2	LIM domain	2CU8	on_hold		このLIM_5全長は、2つのLIMドメインからなるCRP2(Cysteine-rich protein 2)である。このCRP2は、チロシンホスファターゼPTP-BLと結合することが報告されており、皮膚のアクチン細胞骨格の構築に関与すると推測されている。また、CRP2BP(CRP2 binding partner)と結合することが報告されている。今回解析したドメインはCRP2中のLIM-1であり、チロシンホスファターゼPTP-PESTの4番目のPDZドメインとの結合が報告されている。構造は典型的なLIMドメインであった。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
581	Nck-1	SH3 domain	2CUB	on_hold		Nck蛋白質はcell proliferation, differentiation, migrationや cytoskeleton organization において、シグナル蛋白質と結合してシグナル伝達の中心的役割を果たす重要な受容体蛋白質である。一般に、SH3ドメインはPXXP結合部位を持つタンパク質と相互作用し生体の様々な箇所でも重要な働きを持つが、本ターゲットはこの細胞移動制御における分子認識の役割を果たしていると考えられる。Nck蛋白質の強制発現が腫瘍形成を導くことはよく知られており、腫瘍や癌の発生と深い関わりがあると推測される。5本のβストランドからなる半開きのベータ・バレル構造で、第一βストランドと第二βストランド間にRTループと呼ばれる細長いヘアピン様のループ構造を持つ。また、第四βストランドと第五βストランドの間に、3残基程度の短い3-10ヘリックス型のターン構造を持つ。多くのSH3ドメインでRTループのN末端側、310ヘリックス上、第三βストランドの付け根周辺、そして第四βストランド中ほどに芳香族残基が保存されており、これらがプロリンリッチ配列を認識し、結合する。	
582	hypothetical SH3RF2 protein	SH3 domain	2CUC	on_hold		本蛋白質はDNA配列でコードされるアミノ酸領域の配列から推定された仮想蛋白質である。アミノ酸配列データベースに対して相同解析を行った結果、本蛋白質はSH3ドメインを二つ含むリングフィンガー蛋白質であると予測される。リングフィンガー蛋白質は一般に細胞骨格の保全や細胞成長、細胞接合で重要な役割を果たしている。一般に、SH3ドメインはPXXP結合部位を持つタンパク質と相互作用し生体の様々な箇所でも重要な働きを持つが、本ターゲットの全長蛋白質は細胞成長や細胞接合に関与している可能性が示唆されるので、本ドメインは細胞移動制御における分子認識の役割を果たしていると考えられる。5本のβストランドからなる半開きのベータ・バレル構造で、第一βストランドと第二βストランド間にRTループと呼ばれる細長いヘアピン様のループ構造を持つ。また、第四βストランドと第五βストランドの間に、3残基程度の短い3-10ヘリックス型のターン構造を持つ。多くのSH3ドメインでRTループのN末端側、310ヘリックス上、第三βストランドの付け根周辺、そして第四βストランド中ほどに芳香族残基が保存されており、これらがプロリンリッチ配列を認識し、結合する。	
583	SRC-like-adaptor Protein (SLAP)	SH3 domain	2CUD	on_hold		全長はSrc-like adpater protein (SLAP)と呼ばれる蛋白質。Src蛋白質と全く同様にSH3ドメインとSH2ドメインを持つが、tyrosine-kinaseドメインを欠く。Src蛋白質がT細胞受容体(TCR)シグナル伝達においてT細胞活性化の中心的な役割を果たすのに対し、SLAPはCD3ζ、ZAP-70、SLP-76、Vav、LATなどのシグナル伝達複合体と相互作用し、TCRシグナルを抑制するネガティブな因子として働く。SLAPはSH2ドメインとSH3ドメインを持つが、TCRシグナル抑制機能には両ドメインが加算的に貢献する。SLAPのSH3ドメインはSrcのSH3ドメインとは違う結合特性を持つことが示唆されている。T細胞の活性化を抑制するため、この蛋白質の異常は癌の発生・成長に直接的に関係する。5本のβストランドからなる半開きのベータ・バレル構造で、第一βストランドと第二βストランド間にRTループと呼ばれる細長いヘアピン様のループ構造を持つ。また、第四βストランドと第五βストランドの間に、3残基程度の短い3-10ヘリックス型のターン構造を持つ。本SH3ドメインはRTループに4つのプロリン残基を有し、他のSH3ドメインのRTループと比べ大きく反り上がっている。多くのSH3ドメインでRTループのN末端側、3-10ヘリックス上、第三βストランドの付け根周辺、そして第四βストランド中ほどに芳香族残基が保存されており、これらがプロリンリッチ配列を認識し、結合する。本SH3ドメインの場合、3-10ヘリックス上の対応する芳香族残基がシステインになっているが、他の芳香族残基は保存されているためプロリンリッチ配列との相互作用は同様に有すると考えられる。	
584	Paired box protein Pax-6	homeodomain	2CUE	on_hold		Pax-6は転写制御因子で、眼、脳下垂体、大脳皮質、嗅覚上皮組織、神経系などの発達の初期段階に発現され、中心的な役割を果たす。ホメオドメインは約60残基からなり、三本のヘリックスが折りたたまった構造を持つ。転写因子や転写制御因子にしばしば含まれ、DNA結合能を有する。このファミリーの中で、特に第三ヘリックスの9番目の位置に保存されたセリン残基を持ち、また、128残基からなるDNA結合能を持つドメインとペアで存在するものはpaired Homeodomainとして分類される。眼の虹彩(iris)がなくなる遺伝病(無虹彩: aniridia)はPax-6の異常によることが分かっている。3本のαヘリックスを持ち、第一、第二ヘリックスは逆平行に並び、第三ヘリックスがそれらを横切るようにバックしている。	
585	FLJ21616 protein (Fragment).	homeodomain	2CUF	on_hold		本蛋白質はDNA配列でコードされるアミノ酸領域の配列から推定された仮想蛋白質である。アミノ酸配列データベースに対して相同解析を行った結果、本蛋白質は種々の生物の肝細胞転写因子蛋白質に含まれるドメインと有意な相同性を持つドメインを共通して持っていることがわかった。homeobox(ホメオドメイン)は様々な転写因子などにみられる約60残基の小さなドメインで、3本のヘリックスからなる。ホメオドメインは3本目のヘリックスをDNA二重鎖のメジャーグループにさせながらDNAと結合できる。DNA結合部位の反対側の表面を使って他の蛋白質などと相互作用することが示唆されている。肝細胞転写因子蛋白質の異常は、例えば癌、糖尿病(11型)、肝炎などの疾患に関与していることが知られている。3本のαヘリックスを持ち、第一、第二ヘリックスは逆平行に並び、第三ヘリックスがそれらを横切るようにバックしている典型的なホメオボックスフォルドである。本蛋白質の特徴は第二ヘリックスと第三ヘリックスの間に15残基の特徴的な挿入配列をもつことである。構造解析の結果、この挿入配列は比較的安定したループ構造をとっていることが分かった。ポケットの存在が自明なわけではないが、DNA結合部位と推定される第三ヘリックスには正電荷が偏って分布しているのに対し、その反対側の表面では特徴的な挿入配列が比較的安定な構造をとっているため、何らかの蛋白質または基質と相互作用すると考えられる。	
586	mKIAA0962 protein	DnaJ domain	2CUG	on_hold		本蛋白質はマウスDNA配列でコードされるアミノ酸領域の配列から推定された仮想蛋白質である。アミノ酸配列相同解析で有意な相同性を示したものは全て機能不明であるが、DnaJドメインの他にチオレドキシンドメインを含む可能性が示唆されている。チオレドキシンは特に間違ったジスルフィド結合のかけなおしに必須であることから、全長蛋白質は蛋白質のmisfoldingを監視する役割があるのかもしれない。DnaJドメインはHsp70熱ショック蛋白質DnaKと相互作用してprotein foldingや会合の分離などに関わるため、分子シャペロンとして認識されている。DnaJはDnaKとの相互作用に直接かかわるN末端のJドメイン(約70残基)、そして約30残基のGly-richドメインを挟んで4つのCXKXCXGXGモチーフのリピードが特徴的なCRRドメインが続き、C末端には構造不明の120-170残基が続く。本ターゲットはDnaJのN末端のJドメインである。2本の長いαヘリックスがヘリックススターンヘリックス様のモチーフをとり、両末端の短いαヘリックスが疎水表面を覆うようにしてバックして、コンパクトな構造を形成している。第二αヘリックスのC末端側にあるHPDという配列は種間でよく保存されており、DnaKとの結合に必要なことが知られている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
587	Tenascin X precursor (TN-X)	fn3 (fibronectin type III ) domain	2CUH	on_hold		Tenascin-Xは組織間をつなぐ細胞外マトリックスの主要構成蛋白質である。TNXBは3816残基のアミノ酸からなり、次の5つの領域を持つ:分泌経路における蛋白質をターゲットとするシグナルペプチド領域、7つの疎水性残基のリピート3つからなる疎水性ドメイン、18.5 EGF様 リピート、fibronectin type III リピート、そしてC末端のfibronogen様ドメインである。この構造は6量体を作るTNCや3量体のTNRと共通していることから、TNXも高次の複合体を形成すると考えられる。TNXは線維芽細胞に豊富に見られ、コラーゲン線維の沈着に関与していると考えられている。Fibronectin type III domainは細胞外蛋白質に多く見られる7本のβストランドからなるβサンドイッチ型蛋白質で、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する。このドメイン単独での機能は明確ではない。細胞外マトリックスなどでリピートとして頻繁に見られるため、構造蛋白質である可能性が高いと考えられている一方で、他の分子を特異的に認識する機能を持つものもあるのではないかとする説もある。Tenascinの異常により膠原線維の形成異常による結合組織疾患、Ehlers-Danlos syndrome (エーラス・ダンロス症候群)が引き起こされることが報告されている。7本のβストランドからなる免疫グロブリン様のβサンドイッチ構造をとる。つまり、βストランドを順にABC...と名づけると、ABEからなる面とDCFGからなる面が合わさった構造をしている。Gストランドはするどく曲がって2本のストランドに割れているように見えることもある。	
588	Tenascin X precursor (TN-X)	fn3 (fibronectin type III ) domain	2CUI	on_hold		Tenascin-Xは組織間をつなぐ細胞外マトリックスの主要構成蛋白質である。TNXBは3816残基のアミノ酸からなり、次の5つの領域を持つ:分泌経路における蛋白質をターゲットとするシグナルペプチド領域、7つの疎水性残基のリピート3つからなる疎水性ドメイン、18.5 EGF様 リピート、fibronectin type III リピート、そしてC末端のfibronogen様ドメインである。この構造は6量体を作るTNCや3量体のTNRと共通していることから、TNXも高次の複合体を形成すると考えられる。TNXは線維芽細胞に豊富に見られ、コラーゲン線維の沈着に関与していると考えられている。Fibronectin type III domainは細胞外蛋白質に多く見られる7本のβストランドからなるβサンドイッチ型蛋白質で、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する。このドメイン単独での機能は明確ではない。細胞外マトリックスなどでリピートとして頻繁に見られるため、構造蛋白質である可能性が高いと考えられている一方で、他の分子を特異的に認識する機能を持つものもあるのではないかとする説もある。Tenascinの異常により膠原線維の形成異常による結合組織疾患、Ehlers-Danlos syndrome (エーラス・ダンロス症候群)が引き起こされることが報告されている。7本のβストランドからなる免疫グロブリン様のβサンドイッチ構造をとる。つまり、βストランドを順にABC...と名づけると、ABEからなる面とDCFGからなる面が合わさった構造をしている。	
589	Transcriptional adaptor 2 like	SWIRM domain	2CUJ	on_hold		このhADA2-SWIRMは、Myb-DNA-bindingドメインとSWIRMドメインから構成されるTranscriptional adapter 2-likeである。このタンパク質はクロマチン結合タンパク質で、転写に関与している。今回、解析したhADA2-SWIRMはTranscriptional adapter 2-likeのSWIRMドメインであり、クロマチン-たんぱく質の集合体におけるタンパク質-タンパク質相互作用を介すると予想されている。また、SWIRMドメインはアミノキシダーゼに関与する触媒的なドメインに結合する。さらにヒトでは、SWIRMドメインはタンパク質分解に関与するJABドメインに結合する。4つのヘリックスがあり、4-helical bundleを形成している。	
590	Tenascin X precursor (TN-X)	fn3 (fibronectin type III ) domain	2CUM	on_hold		Tenascin-Xは組織間をつなぐ細胞外マトリックスの主要構成タンパク質である。TNXBは3816残基のアミノ酸からなり5つの領域をもつ:分泌経路におけるタンパク質をターゲットとするシグナルペプチド領域、疎水性ドメイン、18.5 EGF様リピード、fibronectin type IIIリピード、そしてC末端のfibrinogen related domainである。この構造は6量体を作るTNCや3量体のTNRと共通していることから、TNXも高次の複合体を形成することが予想される。TNXは繊維が細胞に豊富に見られ、コラーゲン線維の沈着に関与していると考えられる。Tenascinの異常により膠原線維の形成異常による結合組織疾患、Ehlers-Danlos syndromeが引き起こされることが報告されている。7つのβストランドからなり、これらのストランドは2つの逆平行βシートを形成している。1つ目のシートは3つのストランドからなり、2つ目のシートは4つのストランドから形成されている。	
591	Skeletal muscle LIM-protein 1	LIM domain	2CUP	on_hold		FHL1 (SLIM1)は、LIM onlyタンパク質の一員で、タンパク質間相互作用を担っており、出生後期の骨格筋に発現している。FHL1の転写レベルは骨格筋の成長と相関している。	
592	Skeletal muscle LIM-protein 2	LIM domain	2CUQ	on_hold		FHL3 (SLIM2)は、ヒトの骨格筋で比較的強く発現しており、筋細胞の分化の際に発現が誘導され、最近、骨格筋決定の調節因子であることが同定された。細胞周期の発達の制御に関わる。G2サイクルの調節因子CDC25Bと相互作用することが知られている。	
593	Skeletal muscle LIM-protein 1	LIM domain	2CUR	on_hold		FHL1 (SLIM1)は、LIM onlyタンパク質の一員で、タンパク質間相互作用を担っており、出生後期の骨格筋に発現している。FHL1の転写レベルは骨格筋の成長と相関している。	
594	L-protein/E3		(105V)	on_hold		生体内でのグリシンまたは2オキソ酸の分解反応は多酵素複合体(一連の反応を触媒する酵素が複合体を形成したもの)である。グリシン開裂系または2オキソ酸脱水酵素複合体によりそれぞれ触媒される。これらの多酵素複合体において最終段階の反応を触媒する酵素がLタンパク質であり、生体内で共用されている。今回、高度好熱菌Lタンパク質の立体構造を解明することに成功した。Lタンパク質は他の生物種由来のものでは2.4 Å分解能が最高であったが、今回1.6 Å分解能で構造精密化を行ない、活性部位についてのより精密な構造を得ることができた。また、高度好熱菌Lタンパク質は常温性生物由来のものと比較して、サブユニット間の塩橋が大幅に増加しており、これが耐熱性の一つの要因であることが明らかになった。今後は今回得られた構造を元に複合体での構造解析をすすめる予定である。また、グリシン開裂系および2オキソ酸脱水酵素複合体は細菌から動物植物にわたって広く存在し、ヒトではそれらの遺伝子変異が非ケトーンシンス型高グリシン血症またはメーブルンロップ尿症などの疾患を引き起こす。したがって、これらの多酵素複合体の構成成分およびそれらの複合体の構造を解明することにより、原子レベルで疾患を理解することが可能となり、新しい治療法の開発にも貢献できると期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
595	T7 RNA polymerase elongation complex		1H38	released	2002.11.20	全長タンパク質は転写を行う酵素で染色体の構造、遺伝子の発現などに関係する。全ての生物は遺伝情報の担い手である遺伝子を持っている。ほとんどの遺伝子はDNAと呼ばれる物質でできており、遺伝情報は、DNAからメッセンジャーRNA (mRNA) という物質に転写された後、タンパク質へと翻訳されることによって、細胞或は生体に伝えられる。RNAポリメラーゼは、DNAからmRNAへの転写反応を直接つかさどっている重要なタンパク質である。RNAポリメラーゼは、まずプロモーターと呼ばれる、遺伝子の上流に位置する特徴的な部分に結合し、DNA上を下流に向かってスライドしながらmRNAを合成して行く。今回、バクテリアに感染するウイルスの一種である「T7ファージ」由来のRNAポリメラーゼを用い、転写反応を反映するようにデザインした18塩基対からなるDNA:RNAハイブリッド分子と、RNAポリメラーゼとが1:1で結合した複合体の結晶構造を解析した。その結果、RNAポリメラーゼのN末端側130アミノ酸残基および活性中心部分の構造が大きく変化することが分かった。この構造は、mRNAの合成(転写)途上にあるRNAポリメラーゼの構造を反映していると考えられる。今回明らかになった構造は、微生物由来のRNAポリメラーゼにも似た構造が認められていることから、生物種を超えた普遍的な転写反応の原子レベルでの理解につながる可能性がある。従って、抗生物質や活性制御物質が転写部分で作用する機構を明らかにし、効果の高い新薬の開発につながる可能性がある。さらに、T7 RNAポリメラーゼは、試験管内におけるRNAの合成酵素として利用されている。今回、転写反応の途上のRNAポリメラーゼの構造が明らかになったことで、本酵素の改良研究への道が開けた。RNA分子は、アンチセンスRNA等として、医薬品として利用され始めている。T7 RNAポリメラーゼを改良することで、RNA医薬の生産性向上へ寄与できる可能性がある。	
596	heme oxygenase ferric form		1IW0	released	2003.4.8	ヘム分子の代謝をおこなう酵素の解析により、基質とタンパク質の相互作用様式を明らかにした。多種生物由来の同タンパク質の解析はすでにあるが、これらの立体情報は薬剤開発の基礎としても利用可能である。	
597	heme oxygenase ferric form		1IW1	released	2003.4.4	ヘム分子の代謝をおこなう酵素の解析により、基質とタンパク質の相互作用様式を明らかにした。多種生物由来の同タンパク質の解析はすでにあるが、これらの立体情報は薬剤開発の基礎としても利用可能である。	
598	bacteriorhodopsin		1IW6	released	2002.12.11	光エネルギーによって、細胞内のプロトン細胞外に能動輸送するタンパク質である。この解析では活性と関連した立体構造変化を明らかにした。発現は酸素分圧と光によって調節されることが知られており、エナジエティクスに関連したものであることは明白だが、一方で光センサーとして機能しているのではないかと考えられているため光科学分野への応用が期待できる。	
599	bacteriorhodopsin		1IW9	released	2003.12.23	光エネルギーによって、細胞内のプロトン細胞外に能動輸送するタンパク質である。この解析では活性と関連した立体構造変化を明らかにした。発現は酸素分圧と光によって調節されることが知られており、エナジエティクスに関連したものであることは明白だが、一方で光センサーとして機能しているのではないかと考えられているため光科学分野への応用が期待できる。	
600	cytochrome P450cam		1IWI	released	2002.6.5	Pseudomonas putida由来のシトクロムP450cam (P450cam) は、D- camphorの水酸化を触媒するヘム鉄含有モノオキシゲナーゼである。Ferrous-carbon monoxide結合型のP450cam (CO-P450cam) にPutidaredoxin (Pdx)が結合すると活性部位に構造変化が起こるが、この構造変化のメカニズムを解明するために、P450の表面にあたるアミノ酸に変異を加えたタンパク質の解析を行った。R109KとR112Kの結晶構造解析によりArg112のグアニジウム群とPdx112の間の相互作用が構造変化において重要であることがわかった。また、変異によって水酸化反応産物と消費酸素の共役率が変化することは無かった。	
601	cytochrome P450cam		1IWI	released	2002.6.5	Pseudomonas putida由来のシトクロムP450cam (P450cam) は、D- camphorの水酸化を触媒するヘム鉄含有モノオキシゲナーゼである。Ferrous-carbon monoxide結合型のP450cam (CO-P450cam) にPutidaredoxin (Pdx)が結合すると活性部位に構造変化が起こるが、この構造変化のメカニズムを解明するために、P450の表面にあたるアミノ酸に変異を加えたタンパク質の解析を行った。R109KとR112Kの結晶構造解析によりArg112のグアニジウム群とPdx112の間の相互作用が構造変化において重要であることがわかった。また、変異によって水酸化反応産物と消費酸素の共役率が変化することは無かった。こちらはR109K変異体である。	
602	cytochrome P450cam		1IWK	released	2002.6.5	Pseudomonas putida由来のシトクロムP450cam (P450cam) は、D- camphorの水酸化を触媒するヘム鉄含有モノオキシゲナーゼである。Ferrous-carbon monoxide結合型のP450cam (CO-P450cam) にPutidaredoxin (Pdx)が結合すると活性部位に構造変化が起こるが、この構造変化のメカニズムを解明するために、P450の表面にあたるアミノ酸に変異を加えたタンパク質の解析を行った。R109KとR112Kの結晶構造解析によりArg112のグアニジウム群とPdx112の間の相互作用が構造変化において重要であることがわかった。また、変異によって水酸化反応産物と消費酸素の共役率が変化することは無かった。こちらはR112Kの変異体である。	
603	MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate)	calmodulin binding domain	1IIWQ	released	2003.3.11	MARCKS (myristoylated alanine-rich C kinase substrate)は中枢神経系に必須な膜関連タンパク質で、プロテインキナーゼCの主要な基質として最初に同定された神経系、およびマクロファージ中のタンパク質である。MARCKSのカルモジュリン結合部位はカルモジュリン、アクチン、膜脂質を含む様々なターゲットと相互作用し、いくつかのシグナル伝達経路におけるcrosstalk pointとして機能することが示されている。ここでは、MARCKSカルモジュリン結合部位にCa <sup>2+</sup> とカルモジュリンが結合した状態で構造解析を行った。	
604	bacteriorhodopsin		1IXF	released	2003.12.23	光エネルギーによって、細胞内のプロトン細胞外に能動輸送するタンパク質である。この解析では活性と関連した立体構造変化を明らかにした。発現は酸素分圧と光によって調節されることが知られており、エナジエティクスに関連したものであることは明白だが、一方で光センサーとして機能しているのではないかと考えられているため光科学分野への応用が期待できる。	
605	Valyl-tRNA synthetase (ligand-free)		1IYW	released	2003.6.17	バリンtRNA合成酵素の結晶構造である。すでに解析済みのValRSとtRNAとの複合体の結晶構造とあわせて、正確な遺伝暗号の翻訳に必須であるアミノ酸の校正反応のメカニズムを解明するために重要である。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
606	probable NADPH quinone oxidoreductase		1IYZ	released	2003.7.15	本酵素は、medium-chain dehydrogenase/reductaseスーパーファミリーに属するタンパク質であり、その詳細な機能は不明である。立体構造解析と機能解析の結果、本酵素はNADHよりNADPHを結合するのに適した構造をしており、小さな分子を基質とするキノン還元酵素であることが分かった。	
607	probable NADPH quinone oxidoreductase		1IZ0	released	2003.7.15	本酵素は、medium-chain dehydrogenase/reductaseスーパーファミリーに属するタンパク質であり、その詳細な機能は不明である。立体構造解析と機能解析の結果、本酵素はNADHよりNADPHを結合するのに適した構造をしており、小さな分子を基質とするキノン還元酵素であることが分かった。そこで、NADPH との複合体を結晶化し、その立体構造を解析した。	
608	malate dehydrogenase		1IZ9	released	2002.10.16	クエン酸回路の最終反応を触媒してオキサロ酢酸を再生する酵素(リンゴ酸デヒドロゲナーゼ)の立体構造を解明した。リンゴ酸のヒドロキシ基をNAD <sup>+</sup> で酸化する反応を触媒するこの酵素の立体構造を決定することにより、クエン酸回路を回し続けるために必要なオキサロ酢酸が再生される仕組みを原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。クエン酸回路は、細胞が消化した食物分子からエネルギーを取り出す必須の過程であり、リンゴ酸デヒドロゲナーゼは、その回路においてオキサロ酢酸を再生するという重要な役割を果たしている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
609	P450BSbeta		1IZ0	released	2003.3.18	脂肪酸の水酸化反応を触媒する酵素の解析により、基質と酵素と補因子との相互作用様式を明らかにした。タンパク質構造は既知のcytochrome P450と相同性が高い。薬剤開発の基礎としても利用可能。	
610	Glutamyl-tRNA synthetase (complexed with ATP and Glu)		1J09	released	2003.2.25	高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とATPおよびアミノ酸との複合体の結晶構造である。遺伝暗号の翻訳に必須であるGluRSの基質認識機構や反応機構が明らかになった。	
611	Tyrosyl-tRNA synthetase (complexed with tRNA(Tyr) and L-Tyrosine)		1JIU	released	2003.6.3	アミノアシルtRNA合成酵素(DNAの遺伝情報を正しいタンパク質のアミノ酸配列にtRNAを介して翻訳する際に、特定のアミノ酸と対応するtRNAを結びつける酵素)のひとつで、天然には存在しない新しいアミノ酸(非天然アミノ酸)と新しいtRNAを結合させる合成酵素であるTyrRSの立体構造を解明した。TyrRSのアミノ酸とtRNAの認識の様子を、原子レベルの分解能で明らかにし、これまでの報告とは異なるtRNAとアミノ酸(チロシン)を識別する機構の様子を観察した。また、実際に、観測された原子構造をもとにして、TyrRSのアミノ酸結合ポケットを人工的にデザインすることで、新しいアミノ酸やtRNAを強く認識させることに成功した。人工的なTyrRSは、「スーパー細菌」の工業や医薬への応用性を飛躍的に高めることができると考えられる。TyrRSの詳細な原子構造が明らかとなったことで、現在医薬品の設計に用いられている、コンピュータを用いた分子設計の方法により、今までよりずっと高い確度で新しいアミノ酸をtRNAに結合させることが可能となる、すなわち新しいアミノ酸をタンパク質の材料として用いることができるということになる。新しいアミノ酸を構成要素として持つタンパク質は、ダイオキシンなどの有害物質の分解や医薬品となる有機分子の合成を行う酵素のように工業的に有用な酵素や、生体内で働く制がんタンパク質などの医薬品として働くような「スーパータンパク質」の開発に大いに役立つと期待される。	
612	DnaA	DNA-binding domain (complexed with DnaA box DNA)	1J1V	released	2003.4.22	DnaA(大腸菌のDNA複製開始時において、中心的な役割を成すタンパク質)の欠変異体(374-467)を作成し、その特異的結合DNA配列であるDnaAboxと複合体を形成させて、結晶構造解析を行い、その立体構造を解明した。その結果、DnaAタンパク質は、helix-turn-helixモチーフで、DNA配列を認識していることがわかった。さらに、DnaAタンパク質が結合することにより、DnaAboxのDNA構造が、28°湾曲させられていることが解明された。そして、この構造解析から、DnaAタンパク質のDNA認識メカニズムが原子レベルで解明された。DnaAタンパク質は、バクテリアの複製開始時において中心的な役割をなすタンパク質である。今回解明された原子レベルでのDnaAの特異的DNA配列に対する認識メカニズムから、DnaAの特異的DNA配列に対する結合を阻害する化学物質をデザインすることが出来る。この化学物質は、バクテリアのDNA複製を初期の段階で阻害することができ、非常に有効な抗生物質として働くことが期待される。現在までのところ、バクテリアの転写、翻訳段階をターゲットにした抗生物質は開発されているが、DNA複製をターゲットにしたものは存在しない。さらに、DnaAboxの認識配列は、各種バクテリア間で類似しており、このようにしてデザインされた化学物質は、他のバクテリアに対しても応用することが可能である。	
613	Phenylacetic acid degradation protein (PaaI)		1J1Y	released	2004.2.17	フェニル酢酸の分解経路で働く酵素の1つPaaIの立体構造を解明。この酵素を含むpaa遺伝子クラスターは脂肪酸のβ酸化で働く酵素群との類似性があり、推定基質のCoAとの複合体構造を決定したことにより、それぞれの経路で働く酵素の基質特異性や反応特異性を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。フェニル酢酸のような芳香族化合物しか利用できないような環境でも生きていけるような能力を細菌は備えている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
614	conserved hypothetical protein (TT1725)		1J27	released	2003.12.2	原核生物のみに保存されている機能未知のタンパク質TT1725の結晶構造を1.7オングストロームの分解能で決定した。その結果、このタンパク質はferredoxin様の折りたたみ構造をとっていることが明らかとなった。似た構造をもつものには、カルボキシペプチダーゼやフェニルアラニルtRNA合成酵素などがある。しかしながら、表面の電荷分布などは異なっていた。現在のところこのタンパク質の機能は未知であるが、もし生育に必須であれば、原核生物にしか存在しないため、このタンパク質の阻害剤が抗菌剤となりうる可能性はあるが、さらなる研究が必要である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
615	archaeosine tRNA-guanine transglycosylase (complexed with $\alpha$ form tRNA (Val))		1J2B	released	2003. 5. 27	tRNAは通常アクセプター、D、アンチコドン、Tの4つのアームからなるクローバーリーフ状の二次構造をもち、L型の高次構造に折り畳まれている。このL型の高次構造を安定化するために、折り畳みに埋もれたコアの部分に多くの修飾塩基が存在しているが、L型状態のtRNAでは、tRNA修飾酵素はその修飾サイトにアクセスできない。本研究では、RNAのコアに埋もれているG15位を修飾するアーケオシンtRNAグアニルトランスグリコシラーゼ(ArcTGT)とtRNAの複合体の結晶構造を決定した。酵素に結合したtRNAは通常のL型とは大きく異なる構造を取っており、Dアームの二次構造とコアの高次構造が完全に破壊されていた。この新たなtRNAの折り畳みをL型と名付けた。さらに、二次構造が組み変わってコアに相当する部分にヘリカルな構造が新たに形成され、Dアームは一本鎖になり飛び出した状態になっていた。酵素は、このL型tRNAの1位から15位までを数えるように位置依存的に認識し、修飾ターゲットであるG15を正確に位置付けていた。RNAの一種である転移RNAは、DNAに記録されている生体の設計図である遺伝情報からタンパク質を作り出す過程で、重要な働きをしている。すなわち、転移RNAは遺伝情報を読み取り、対応するアミノ酸に変換するという、アダプターのような役割を果たす。生体内には転移RNA以外に、タンパク質の合成を行うリボソームなどに重要なRNAが多数存在しているが、リボソームRNAは転移RNAに比べて非常に大きく、さらに複雑な構造を持っている。生体内でどのようにして、このような複雑な構造を持つリボソームが出来上がるかはいまだによく分かっていないが、今回解明した転移RNAの構造が完成していく仕組みは、このようにさらに複雑なRNAが折り畳んでいく過程への理解への基盤になると考えられる。	
616	aldolase		1J2W	released	2003. 4. 8	(デオキシ) リボスクレオチドの異化分解を担う酵素(デオキシリボースリン酸アルドラーゼ)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、2-デオキシ-D-リボースリン酸をD-グリセルアルデヒド3-リン酸とアセトアルデヒドに分解するアルドラーゼ反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細菌にとってスクレオチドの異化は重要な代謝経路の1つである。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
617	CobTタンパク質 (nicotinate-nucleotide--dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase)		1J33	released	2003. 2. 4	C o b T蛋白質は重要なビタミンの一種であるコバラミン(ビタミンB12)の生合成経路で働く酵素の1つ(ニコチン酸スクレオチドジメチルベンズイミダゾールホスホリボシルトランスフェラーゼ; CobT)である。この酵素の立体構造を決定することにより、ニコチン酸モノスクレオチドと5,6-ジメチルベンズイミダゾールから $\alpha$ -リボゾール-5-リン酸が合成される反応を原子レベルで理解できるようになった。コバラミンは細菌が生育するのに必須なビタミンB12のことなので、その生合成経路で働く酵素の原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
618	ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinase		1J3B	released	2003. 2. 11	糖新生の律速酵素であるATP依存性ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ(PPCK)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、ATPでオキサロ酢酸をリン酸化する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞内に貯蔵してある多糖が枯渇した場合、解糖の逆反応で糖以外の前駆体からグルコースを合成する(糖新生)。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して飢餓状態にある細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
619	SeqA protein	DNA-binding domain (complexed with N6-methyladenine-guanine mismatch DNA)	1J3E	released	2004. 5. 18	染色体の構造、遺伝子の発現などに関係する、DNAの複製を制御するタンパク質である。	
620	S-adenosylmethionine:2-demethylmenaquinone methyltransferase		1J3L	released	2004. 2. 17	メナキノン生合成の最終段階を司る酵素(MenG)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、S-アデノシルメチオニンをメチル供与基としてジメチルメナキノンをメナキノンに変換する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。メナキノンは細菌の呼吸鎖における電子伝達体であり、これがなくては酸化のリン酸化が行えなくなり、エネルギーを獲得することができない。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
621	conserved hypothetical protein TT1751		1J3M	released	2004. 5. 18	好熱菌由来機能未知タンパク質TT1751は古細菌、真性細菌に幅広く保存されている分子量1万4千からなるタンパク質である。今回、この保存性のあるタンパク質の一群として、世界で初めてTT1751のX線結晶構造が明らかにされた。TT1751は結晶中で2量体を形成しており、その内部には閉じられた空洞(closed cavity)が存在することが特徴であった。空洞の表面にはこれらタンパク質の一群において、完全に保存されたシステイン残基が存在しており、触媒に関与する活性残基であることが示唆された。また、計算機による検索により、この空洞に結合が予想される低分子が見つかっており、TT1751とこれら低分子の結合実験を行っている。このTT1751に類似性の高いタンパク質は在郷軍人病(レジオネラ症)を引き起こす Legionella pneumophila、感染症を引き起こすVibrio vulnificusなどが持っており、これらの病気の致死率は約15~40%といずれも高い。逆にヒトを含む高等生物はこれらTT1751に類似したタンパク質を全く持っていない。今後、TT1751に類似したタンパク質がこれらの細菌に必須であることがわかり、また、計算機による結合実験からよい結果が得られれば、これらの病気に対する有効な薬を開発できる可能性がある。	
622	3-oxoacyl-[acyl carrier protein] synthase II		1J3N	released	2003. 3. 11	脂肪酸生合成経路でアシル基の付加反応を触媒する酵素(II型3-オキソアシル-アシルキャリアタンパク質シンターゼ)の立体構造を解明した。マロニルアシルキャリアタンパク質から炭素2個分をアシル基受容体に付加するこの酵素の立体構造を決定することにより、その反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。縮合反応による脂肪酸の合成は細胞にとって必須の仮定である。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
623	gliding protein-Mglb		1J3W	released	2004. 4. 13	ガラクトースなどの糖を細胞外で結合するタンパク質MglBの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、化学受容器と輸送という2つの役割を果たすと考えられているこのタンパク質が働く仕組みを推察できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。MglB遺伝子の変異体は餌である糖を見つけることができなくなる性質を示すことが知られている。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
624	hemoglobin		1J3Y	released	2003. 7. 22	血液中の酸素運搬タンパク質であるヘモグロビンに配位子が結合する過程を直接観測することに世界で初めて成功した。	
625	hemoglobin		1J3Z	released	2003. 7. 22	血液中の酸素運搬タンパク質であるヘモグロビンに配位子が結合する過程を直接観測することに世界で初めて成功した。	
626	hemoglobin		1J40	released	2003. 7. 22	血液中の酸素運搬タンパク質であるヘモグロビンに配位子が結合する過程を直接観測することに世界で初めて成功した。	
627	hemoglobin		1J41	released	2003. 7. 22	血液中の酸素運搬タンパク質であるヘモグロビンに配位子が結合する過程を直接観測することに世界で初めて成功した。	
628	Glutamyl-tRNA synthetase (complexed with ATP)		1N75	released	2003. 2. 25	高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とATPとの複合体の結晶構造。遺伝暗号の翻訳に必須であるGluRSの基質認識機構や反応機構が明らかになった。	
629	Glutamyl-tRNA synthetase (complexed with tRNA (Glu) and ATP)		1N77	released	2003. 2. 25	高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とtRNAおよびATPとの複合体の結晶構造である。tRNAが結合することによって、GluRSに構造変化が引き起こされ、ATPが反応可能になる仕組みが明らかになった。	
630	Glutamyl-tRNA synthetase (complexed with tRNA (Glu) and glutammol-AMP)		1N78	released	2003. 2. 25	高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とtRNA、および酵素に対する強力な阻害剤であるGoAとの複合体の結晶構造である。GluRSの基質認識機構や反応機構を解明するために重要であるばかりでなく、構造をもとにした新たな抗生物質の設計の基礎となる。	
631	2価カチオン耐性タンパク質 CutA1		1NZA	released	2003. 3. 11	2価カチオン耐性蛋白質の結晶構造を分子置換法により1.7Å分解能で決定した。2価カチオンは、海藻や各種海産動物の多糖の生物活性発現にその介在が示唆され、癌細胞を良性化への分化誘導をもたらす機能制御法等が検討されるなどしている。また、日本脳炎ウイルスNS3のRNAヘリカーゼ活性は、二価カチオン及びATPに依存している等の報告もされており、様々な応用に役立つものと思われる。	
632	phosphopantethein adenyltransferase (CoaD)		10D6	released	2003. 3. 13	補酵素A (CoA)の生合成経路で働く酵素(ホスホパンテテインアデニル基転移酵素)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、CoAの合成反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。CoAは細胞内のエネルギー運搬体であり、数多くの反応に関わっている補欠分子属である。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
633	chorismate mutase (monofunctional)		10DE	released	2003. 2. 27	芳香族アミノ酸の生合成経路で働く酵素の1つ、コリスミ酸ムターゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、コリスミ酸からプレフェン酸を合成する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。コリスミ酸は芳香族アミノ酸生合成の分岐点であり、チロシンとフェニルアラニンはコリスミ酸ムターゼの作用で生成するプレフェン酸を経て合成される。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
634	purine nucleoside phosphorylase		10DI	released	2003. 2. 27	プリンヌクレオシドの分解経路で働くプリンヌクレオシドホスホリラーゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、グアノシンやイノシンをグアニンやヒポキサンチンとリボース1-リン酸に分解する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞のヌクレオチド需要は新規にヌクレオチド生合成経路で作ったものでまかなわれるので、摂取した塩基はほとんど分解されて排出される。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
635	purine nucleoside phosphorylase		10DJ	released	2003. 3. 4	プリンヌクレオシドの分解経路で働くプリンヌクレオシドホスホリラーゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、グアノシンやイノシンをグアニンやヒポキサンチンとリボース1-リン酸に分解する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞のヌクレオチド需要は新規にヌクレオチド生合成経路で作ったものでまかなわれるので、摂取した塩基はほとんど分解されて排出される。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
636	purine nucleoside phosphorylase		10DK	released	2003. 2. 27	プリンヌクレオシドの分解経路で働くプリンヌクレオシドホスホリラーゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、グアノシンやイノシンをグアニンやヒポキサンチンとリボース1-リン酸に分解する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞のヌクレオチド需要は新規にヌクレオチド生合成経路で作ったものでまかなわれるので、摂取した塩基はほとんど分解されて排出される。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
637	purine nucleoside phosphorylase		10DL	released	2003. 2. 27	プリンヌクレオシドの分解経路で働くプリンヌクレオシドホスホリラーゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、グアノシンやイノシンをグアニンやヒポキサンチンとリボース1-リン酸に分解する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞のヌクレオチド需要は新規にヌクレオチド生合成経路で作ったものでまかなわれるので、摂取した塩基はほとんど分解されて排出される。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
638	succinyl-CoA synthetase alpha subunit		1O17	released	2003.7.4	解析したSuccinyl-CoA synthetase (SCS)は、succinyl-CoA + Pi + NDP という可逆反応を触媒する酵素である。	
639	H-protein		1ONL	released	2003.8.26	生体内でのグリシンの分解反応は多酵素複合体(一連の反応を触媒する酵素が複合体を形成したもの)であるグリシン開裂系により触媒される。グリシン開裂系は4種類のタンパク質(P, H, T, L)および5種類の補酵素から構成されている。Hタンパク質はグリシン開裂系の中心的な存在であり、そのほかの3種類の構成タンパク質の間で反応中間体を運搬する重要な役割を担っている。今回、Hタンパク質の立体構造を原子分解能で明らかにし、他の構成タンパク質との相互作用に関与すると考えられる領域を発見した。今後は今回得られた構造を元に複合体での構造解析をすすめる予定である。また、グリシン開裂系は細菌から動植物にわたって広く存在し、ヒトではその遺伝子変異が非ケト-シス型高グリシン血症を引き起こす。したがって、グリシン開裂系の構成成分およびそれらの複合体の構造を解明することにより、原子レベルで疾患を理解することが可能となり、新しい治療法の開発にも貢献できると期待される。	
640	T7 RNAP / ATP complex		1SOV	released	2004.2.24	RNAポリメラーゼは、DNAの遺伝情報を正確に読み取り、mRNAを合成する重要なタンパク質である。我々は、バクテリアに感染するウイルスの一種であるT7ファージ由来のRNAポリメラーゼ(T7RNAポリメラーゼ)と、DNA:RNAハイブリッド分子、及び、ATPの非加水分解型疑似物質;aメチレン ATP (AMPcPP)との複合体の結晶構造を、~3 Åの分解能で決定した。その構造解析からAMPcPPは、DNA:RNAハイブリッド分子上のDNA鎖の相補ヌクレオチドと塩基対を形成し、さらに、非活性型である“開いた”構造をしたT7RNAポリメラーゼに結合していた。T7RNAポリメラーゼは、より複雑な構造をしたマルチサブユニット型RNAポリメラーゼと共通のメカニズムで転写反応を行っているため、今回明らかにした構造は、普遍的なRNA合成の分子メカニズムを反映していると考えられる。転写反応に関わるメカニズムが、原子レベルで解明されたことは、遺伝情報の伝達の仕組みを解明する上で重要な知見を与えるだけでなく、抗生物質や活性制御物質が転写部分で作用する機構を明らかにし、効果の高い新薬の開発も可能になると期待できる。	
641	RNAP/ppGpp complex		1SMY	released	2004.5.18	RNAポリメラーゼは、DNAの遺伝情報を正確に読み取り、RNAを合成する重要なタンパク質である。最近では、緊縮調節と呼ばれる現象が知られており、細胞がアミノ酸の飢餓状態にさらされると、グアノシン4リン酸(ppGpp)と呼ぶ化学物質をつくり、RNAポリメラーゼの活性を制御し、特定の遺伝子の発現を抑制したり、促進したりすることが分かっている。我々は、ppGppとRNAポリメラーゼの複合体を結晶状態に得ることに成功し、その結晶構造を2.7Åの分解能で決定した。その結果、ppGppが、RNAポリメラーゼの活性中心のすぐ近くに結合することが明らかになった。この結晶構造に基づく分子モデリングや生化学的解析から、ppGppは、RNAポリメラーゼの活性中心の立体配置に影響を及ぼし、DNAとも直接相互作用することによって、ポリメラーゼの活性を制御していると考えられる。転写反応とその制御に関わるメカニズムが原子レベルで解明されたことは、遺伝情報の伝達の仕組みを解明する上で重要な知見を与えるだけでなく、抗生物質や活性制御物質が転写部分で作用する機構を明らかにし、効果の高い新薬の開発も可能になると期待できる。	
642	DksA		1TJL	released	2004.9.7	細菌類における遺伝子翻訳は、ポリメラーゼ(RNAP)触媒部位近くに結合してその機能を調整する低分子転写調節因子グアノシン4リン酸によって調節されている。我々は、DksAタンパク質がppGpp-RNAによる調節に不可欠なものであることをここに示す。2.0Å分解能での大腸菌DksAの結晶構造は、球状ドメイン1つと、転写産物切断因子GreAを彷彿とさせ、2つのAsp残基を高確率で先端に含んだコイルドコイル構造で構成されている。構造上の相似は、DksAのコイルドコイル構造がRNAPの二次チャネル中に突き出し、Asp残基を通じてppGppに結合したマグネシウムイオンと配位し、ppGpp-RNAP複合体を安定させている事を示唆している。生化学的分析は、DksAが、GreAとは異なる仕方でも転写産物の伸長に影響を与え、ppGppが転写開始に影響を与えていて、またAsp残基が活性部位近くに位置して、RNAPに直接結合するということを支持している。これらの残基の置き換えがDksAとppGppの間のシナジーを消滅させる事から、二次チャネルが転写因子に共通の調節入口として浮上してきている。	
643	ホスホマンノムターゼ		1TU0	released	2005.8.9	ホスホマンノムターゼは細菌の外骨格を構成する多糖類の生合成経路において働く酵素であるため、その阻害剤を抗生物質として利用できる可能性がある。今回我々はThermus thermophilus HB8由来ホスホマンノムターゼの結晶構造を、MAD法により1.7Å分解能で決定した。本酵素は既に報告されているPseudomonas aeruginosa由来酵素またはウサギ由来ホスホグルコムターゼに類似し、4つのドメインを持つハート状構造をとっていた。耐熱性ホスホマンノムターゼとしては初めての構造であるので、耐熱性と構造の関係についての議論が可能である。	
644	Hfq protein		1U1S	released	2005.1.25	Pseudomonas aeruginosa由来のHfqタンパク質の立体構造を異なる2つのイオン条件下で決定した。どちらの場合も分子はそれぞれ6量体リング構造を形成していたが、結晶パッキングにいくらかバリエーションが見られた。HfqはSm/LSmタンパク質ファミリーに属し、そのファミリーのタンパク質は6量体だけでなく7量体も形成する事ができる。このファミリーのタンパク質の既に知られている構造と比較してみると、Smフォールドの一部が多量体化において必要であるということが構造的に強く保存されていることがわかる。7量体リング構造では、3つの保存された水素結合(隣の分子のβストランドとの結合)がモノマー同士を結合させているほか、Hfqの6量体リング構造ではもう1つ、近隣の分子間で到達しづらい、保存された水素結合が存在しているのが見られた。	
645	Hfq protein		1U1T	released	2005.1.25	Pseudomonas aeruginosa由来のHfqタンパク質の立体構造を異なる2つのイオン条件下で決定した。どちらの場合も分子はそれぞれ6量体リング構造を形成していたが、結晶パッキングにいくらかバリエーションが見られた。HfqはSm/LSmタンパク質ファミリーに属し、そのファミリーのタンパク質は6量体だけでなく7量体も形成する事ができる。このファミリーのタンパク質の既に知られている構造と比較してみると、Smフォールドの一部が多量体化において必要であるということが構造的に強く保存されていることがわかる。7量体リング構造では、3つの保存された水素結合(隣の分子のβストランドとの結合)がモノマー同士を結合させているほか、Hfqの6量体リング構造ではもう1つ、近隣の分子間で到達しづらい、保存された水素結合が存在しているのが見られた。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
646	conserved protein TT1542		IUAN	released	2003. 8. 5	TT1542タンパク質は保存された機能未知タンパク質であり、PfamデータベースのDUF158ファミリーに属する。BLASTサーチの結果、TT1542のホモログは生物に広い範囲で存在することが示された。真核生物のホモログは、PIG-L (哺乳動物)とGPI12 (出芽酵母と原生動物)であるが、これらはN-acetylglucosaminylphosphatidylinositol (GlcNAc-PI) de-N-acetylase 活性を有し、GPIアンカー修飾に関わっている。原核生物のホモログのほとんどは機能が知られていないが、結核菌のRv1082タンパク質とRv1170タンパク質はmycothiol脱毒化経路に必須である事が知られている。この研究ではTT1542の結晶構造を2.0 Å分解能で決定した。この構造はこのタンパク質が属するスーパーファミリーで初めての構造である。TT1542単量体は6つの平行β鎖と1つの反平行β鎖からなるねじれたβシートを形成しこれを6つのαヘリックスが挟む構造をとっていた。TT1542は結晶中と溶液中の両方でホモ量体構造をとり、円柱状の構造を形成していた。立体構造と保存配列から、円柱状構造の側面に活性部位があると推測された。この構造はこのスーパーファミリーに属するほかのタンパク質の立体構造予測に役立つ。いくつかのタンパク質は重要な創薬ターゲットとなりえるものである。GPIが結合したタンパク質はアフリカ眠り病、マラリア、リーシュマニア症、シャーガス病といった原生動物由来の疾患に重要な役割を果たしていると考えられる。また、結核菌由来の2つのタンパク質はmycothiol代謝に必須であるが、これらもまた重要な創薬ターゲットである。	
647	Rhodanese, thiosulfate sulfurtransferase (CysA)	Rhodanese	IUAR	released	2004. 9. 21	細胞内への硫黄原子の取り込みに関与する酵素(チオ硫酸硫黄原子転移酵素)の立体構造を解明した。植物や微生物では硫黄原子は硫酸塩の形で取り込まれ、体内で硫化水素に還元され、含硫アミノ酸の合成に用いられる。触媒活性に重要な役割を果たす成分として利用されることもある。その取り込みを担う硫黄原子転移酵素(Sulfurtransferase)が関わっている転移反応は、硫黄原子供与体であるチオ硫酸(S2O3 <sup>2-</sup> )から硫黄原子を受け取り、受け取った硫黄原子を硫黄原子受容体であるシアン化物(CN <sup>-</sup> )に受け渡し、チオシアン(SCN <sup>-</sup> )を生成するといったものである。その反応を触媒するCysAの立体構造を決定することにより、熱安定性を高め、なおかつ酵素活性を維持するための構造上の特徴を明らかにできた。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細菌にとって硫黄原子は欠くことのできない元素であり、硫酸基としてだけではなく硫化水素としても存在し、その転移反応には硫黄原子転移酵素(Sulfurtransferase)が関わっている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を低下させるような薬剤の開発に役立つことが期待される。	
648	L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (probable short-chain dehydrogenase)		IUAY	released	2003. 4. 15	脂肪酸β酸化で働く酵素の1つL-3-ヒドロキシアシルCoAデヒドロゲナーゼの立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、NAD+によるL-3-ヒドロキシアシルCoAの脱水素反応がどのようにして3-オキソアシルCoAを生成するかを原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。脂肪酸のβ酸化は、細胞が取り込んだ脂肪(酸)からエネルギーをアセチルCoAの形で効率よく取り出す過程であり、重要なエネルギー代謝の1つである。よって、β酸化で働く酵素の原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
649	phosphomethylpyrimidine kinase (ThiD)		IUB0	released	2003. 4. 8	チアミン生合成経路で働く酵素(ThiD)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、4-アミノ-2-メチル-5-ホスホメチルピリミジンから2-メチル-4-アミノ-5-ヒドロキソメチルピリミジン二リン酸を生成する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。チアミンは細菌の生育にとって必須な微量成分(ビタミンB1)である。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
650	deoxyribose-phosphate aldolase		IUB3	released	2003. 4. 8	(デオキシ)リボスクレオチドの異化分解を担う酵素(デオキシリボースリン酸アルドラーゼ)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、2-デオキシ-D-リボースリン酸をD-グリセルアルデヒド3-リン酸とアセトアルデヒドに分解するアルドラーゼ反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細菌にとってスクレオチドの異化は重要な代謝経路の1つである。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
651	3-oxoacyl-[acyl carrier protein] synthase III		IUB7	released	2003. 4. 15	脂肪酸生合成経路でアシル基の付加反応を触媒する酵素(III型3-オキソアシルアシルキリリアタンパク質シンターゼ)の立体構造を解明した。マロニルアシルキリリアタンパク質から炭素2個分をアシル基受容体に付加するこの酵素の立体構造を決定することにより、その反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。縮合反応による脂肪酸の合成は細胞にとって必須の仮定である。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
652	Lysx (lysine biosynthesis enzyme)		IUC8	released	2003. 9. 23	好度高熱菌のリジン生合成経路を担う酵素、LysXの結晶構造を2Å分解能で決定した。本構造決定に至る以前には全く酵素反応機構に関しては不明であったが、明らかになった構造モチーフの検討により、ATP結合モチーフを有するATP-graspフォールド蛋白質であることが分かった。ATP(ADP)複合体の結晶解析から、スクレオチド結合に関与するアミノ酸が明らかになった。構造自体はグルタミン合成酵素やD-Ala-D-Alaリガーゼと類似しており、ATP依存性のリガーゼであることが強く示唆された。アミノ酸の保存性を構造上で検討することにより、酵素活性に関係するであろうアミノ酸の推定を行った。結晶解析以前にはATPを要求することすら不明であったが、構造から生化学的に必要な基質の一つを決定することができ、従来の好熱菌のリジン生合成経路へ新たな記述をもたらすことができた点は構造ゲノム科学の成果の一端である。結晶解析から得られた活性に関係すると推定されるアミノ酸の情報から、変異体作成の情報を与えることができる。また未知であった酵素反応機構の解明にATPを利用するリガーゼであるという予見を与えたので、この情報を元にさらなる基質の検索を行うことが可能になった。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4。(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
653	LysX (lysine biosynthesis enzyme) (complexed with ADP)		1UC9	released	2003.9.23	好度高熱菌のリジン生合成経路を担う酵素、LysXの結晶構造を2Å分解能で決定した。本構造決定に至る以前には全く酵素反応機構に関しては不明であったが、明らかになった構造モチーフの検討により、ATP結合モチーフを有するATP-graspファミリー蛋白質であることが分かった。ATP(ADP)複合体の結晶解析から、ヌクレオチド結合に関与するアミノ酸が明らかになった。構造自体はグルタミン合成酵素やD-Ala-D-Alaリガーゼと類似しており、ATP依存性のリガーゼであることが強く示唆された。アミノ酸の保存性を構造上で検討することにより、酵素活性に関係するであろうアミノ酸の推定を行った。結晶解析以前にはATPを要求することすら不明であったが、構造から生化学的に必要な基質の一つを決定することができ、従来の好熱菌のリジン生合成経路へ新たな記述をもたらすことができた点は構造ゲノム科学の成果の一端である。結晶解析から得られた活性に関係すると推定されるアミノ酸の情報から、変異体作成の情報を与えることができる。また未知であった酵素反応機構の解明にATPを利用するリガーゼであるという予見を与えたので、この情報を元にさらなる基質の検索を行うことが可能になった。	
654	tRNA processing enzyme RNase PH		1UDN	released	2003.9.23	リボスクレアーゼ PH (RNase PH) はtRNA生合成の最終過程において、前駆体tRNAの3'末端をトリミングし、CCA末端を持った成熟tRNAを生じさせる酵素である。今回、この酵素と共基質である無機リン酸との複合体の立体構造を原子レベルの分解能で明らかにした。明らかになった活性部位の構造を元に変異体を作成し、変異体の活性測定および、構造解析から、RNase PHの活性に必須の残基を特定し (R86)、また、それぞれの残基が果たす役割を明らかにした。RNase PHのホモログは真性細菌からヒトにいたるまで、保存されており、tRNAに限らず、様々なRNA (mRNA, rRNA, etc)の生合成や、分解に関係していることが知られている。ヒトのRNase PHホモログの中にはPolymyositisなどの原因タンパク質が含まれており、RNase PHの立体構造を元に、これらの病気の新しい治療法を開発することが期待される。	
655	RNA processing enzyme RNase PH R86A mutant		1UDO	released	2003.9.23	リボスクレアーゼPH (RNase PH) はtRNA生合成の最終過程において、前駆体tRNAの3'末端をトリミングし、CCA末端を持った成熟tRNAを生じさせる酵素である。今回、この酵素と共基質である無機リン酸との複合体の立体構造を原子レベルの分解能で明らかにした。明らかになった活性部位の構造を元に変異体を作成し、変異体の活性測定、および構造解析から、RNase PHの活性に必須の残基を特定し (R86)、また、それぞれの残基が果たす役割を明らかにした。	
656	tRNA processing enzyme RNase PH T125A mutant		1UDQ	released	2003.9.23	tRNAの生合成に関与する酵素の立体構造を行った。リボスクレアーゼPH (RNase PH) はtRNA生合成の最終過程において、前駆体tRNAの3'末端をトリミングし、CCA末端を持った成熟tRNAを生じさせる酵素である。今回、この酵素と共基質である無機リン酸との複合体の立体構造を原子レベルの分解能で明らかにした。明らかになった活性部位の構造を元に変異体を作成し、変異体の活性測定および構造解析から、RNase PHの活性に必須の残基を特定し (R86)、また、それぞれの残基が果たす役割を明らかにした。	
657	tRNA processing enzyme RNase PH R126A mutant		1UDS	released	2003.9.23	tRNAの生合成に関与する酵素の立体構造を行った。リボスクレアーゼPH (RNase PH) はtRNA生合成の最終過程において、前駆体tRNAの3'末端をトリミングし、CCA末端を持った成熟tRNAを生じさせる酵素である。今回、この酵素と共基質である無機リン酸との複合体の立体構造を原子レベルの分解能で明らかにした。明らかになった活性部位の構造を元に変異体を作成し、変異体の活性測定および、構造解析から、RNase PHの活性に必須の残基を特定し (R86)、また、それぞれの残基が果たす役割を明らかにした。	
658	Obg (Probable GTP-binding protein)		1UDX	released	2004.3.16	Obgは微生物から高等生物まで保存されている高分子量GTP結合タンパク質である。N端のドメイン、Gドメイン(グアニンヌクレオチド結合ドメイン)、TGSドメイン(ThrRS, GTPase, SpoTで見られるドメイン)からなる。その全長の結晶構造を2.07オングストロームの分解能で決定した。その結果、既に報告のあったTGSドメインを削ったBacillus subtilis Obgの構造とはN端ドメインとGドメインの配置が大きく異なっていることが明らかとなった。また、結晶中では、このTGSドメインで隣りの分子と相互作用しており、その相互作用部位は結合ヌクレオチドにより構造が変化すると予想される部位であった。Obgは高等生物での機能ははまだ不明であるが、微生物では増殖、胞子形成、形態変化などに必須であることがわかっている。また、リボソームやストレス応答転写因子と結合するという報告もある。したがって、特異的な阻害剤を開発できれば、抗菌剤として利用できる可能性が高い。	
659	Isoleucyl-tRNA synthetase	CP1 domain	1UDZ	released	2004.3.23	イソロイシルtRNA合成酵素は自らが誤って作ったVal-AMPおよびVal-tRNA(Ile)を加水分解する。その反応はアミノアシル化活性部位とは独立したCP1ドメイン(editing domain)により行われている。イソロイシルtRNA合成酵素はその単体およびtRNA(Ile)との複合体の全体構造が決定されているが、分解能の不充分からCP1ドメインの詳細な構造は明らかではなかった。また基質の一部であるバリンの結合部位も明らかでなかった。今回はCP1ドメインのみを切り出し、その立体構造を詳細に(1.8オングストローム分解能)決定した。またバリンとの複合体の詳細構造も決定し、その結合様式を明らかにした。生体にとって必須の働きをする反応を担うドメインとその基質との複合体の詳細構造情報により、細菌由来のイソロイシルtRNA合成酵素のCP1の阻害剤を設計できれば新規抗生物質を創出できる。実際にイソロイシルtRNA合成酵素はいくつかの抗生物質のターゲットとなっている。	
660	Isoleucyl-tRNA synthetase CP1 domain-Valine complex	CP1 domain (complexed with L-Valine)	1UE0	released	2004.3.23	イソロイシルtRNA合成酵素の校正(editing)反応を担うドメインとバリンとの複合体構造。校正時のバリン認識様式を正確に解明した。校正部位を改変することによりアミノアシル化部位を非天然アミノ酸を認識するように変化させた人工遺伝暗号系の構築が期待される。生存に必須なドメインのため、阻害剤設計により抗生物質や抗癌剤の開発が期待できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
661	translation elongation factor P (EF-P)		1UEB	released	2004. 5. 25	タンパク質合成を行う上で、リボソーム上で初めてのペプチド結合を促進させる機能を持つと考えられている翻訳因子である。しかし、その詳細な分子メカニズムは明らかになっていない。原核生物に保存されており、そのホモログはeIF-5Aとして真核生物、古細菌にも存在するが、そのペプチドの長さはEF-Pの約3分の2しかない。構造上の特徴としては、3つのドメインからなる、L字構造のタンパク質である。その全体構造はtRNAに非常に似ており、EF-PはtRNAを擬態する事により、リボソームとの結合を可能となり、リボソーム上で機能していると考えられる。また、EF-Pは真核のホモログであるeIF-5Aと、構造が非常に似ており、eIF-5AのC末端に、一つドメインが付加されている構造であることが解った。従って、構造解析の結果から、EF-PとeIF-5Aが同じ祖先から発生したタンパクであり、進化の過程でEF-Pはドメインの重複が起こり出来たことが強く示唆された。	
662	4-(cytidine 5'-diphospho)-2C-methyl-D-erythritol kinase		1UEK	released	2003. 6. 17	CDP-MEキナーゼは、構造上、GHMPスーパーファミリーに属するホモセリンキナーゼやメバロン酸キナーゼに類似している。Lys8とAsp125はメバロン酸キナーゼの活性部位に存在しており、CDP-MEキナーゼの酵素活性にも関与していると考えられる。また、CDP-MEキナーゼのCDP-MEリン酸化反応は、基質のシチジンをウリジンに変えると進行しないことから、基質のピリミジン部分がCDP-MEキナーゼとの相互作用に重要な役割を担っていると考えられる。CDP-MEキナーゼは、非メバロン酸経路の4段階目、CDP-MEの2-ヒドロキシルグループのリン酸化を触媒する酵素である。非メバロン酸経路は、病気を引き起こす原因となる各種微生物(Mycobacterium tuberculosisやPlasmodium falciparumなど)においてイソプレノイド生成に必須のステップである。当経路は哺乳類には存在していないため、CDP-MEキナーゼは新しい抗菌化合物開発のターゲットとして注目されている。	
663	CCA-adding enzyme		1UET	released	2003. 12. 2	tRNA末端のCCA配列は相補鎖型なしに合成され得るが、その反応を触媒する酵素の立体構造を解明し、反応機構を明らかにした。CCA付加酵素はアミノ酸配列の相同性から、古細菌由来のクラスIと真核生物・真正細菌由来のクラスIIとに分類されるが、クラスに属する酵素の立体構造としては最初のものである。4つのドメイン(N末端ドメイン、中央ドメイン、C末端ドメイン、二量体化ドメインの4つ)から構成され、二量体を形成。既に報告されているクラスII-CCA付加酵素と比較して、ドメイン構成とN末端ドメインのトポロジーは共通していたが、他の3つのドメインのトポロジーや二量体化の様式は全く異なっていた。基質であるATPまたはCTPとの複合体の立体構造の解明にも成功し、鋳型非依存的なRNA配列の合成機構を明らかにすることができた。tRNA末端のCCA配列はtRNAがアミノ酸を受容するために必須な配列であり、さらに、リボソームにも認識されてペプチド転移反応に係わるなどタンパク質合成において重要な役割を果たしている。そのため、CCA配列の起源は生命の起源とも係わる重要な問題である。CCA付加酵素は鋳型非依存的に特異的な配列を合成することができる点でも特徴的であり、反応機構と進化的起源の解明が待たれていた。また、解明された基質認識部位に基づくCCA付加酵素の改変によって、生体内で人工的にRNA配列を修復・編集する可能性が開けた。様々な遺伝子の発現が低分子RNAによって制御されていることが近年明らかになっており、遺伝子発現を制御するツールとして使用できる可能性もある。	
664	CCA-adding enzyme (CTP binding type)		1UEU	released	2003. 12. 2	CTP結合型、鋳型非依存的RNAポリメラーゼの一つ、CCA付加酵素[ATP8cTP]:tRNAヌクレオチド転位酵素]は「シチジン-シチジン-アデニン」配列という決められた配列をtRNAの3'末端に付加する。古細菌CCA付加酵素(クラスI)と真正細菌/真核生物CCA付加酵素(クラスII)はわずかなアミノ酸配列相同性を示すが、同一の反応を決まった仕方では触媒する。我々は、Archaeoglobus fulgidus由来クラスI古細菌CCA付加酵素、CTP又はATPと結合した酵素の複合体のそれぞれ2.0、2.0、2.7 Å分解能での結晶構造をここに発表する。カルボン酸塩触媒の位置と、CTP、ATPのシングル触媒部位に対する相対的位置は、両クラスのCCA付加酵素間でかなり保存されているが、触媒中心を除く全体的な構造は根本的に異なっている。さらには、基質であるヌクレオチドとtRNAの認識メカニズムはこの2つのクラス間では全く異なるが、クラスIとクラスII酵素の触媒ドメインは共通の起源を持ち、特徴的な基質認識ドメインが加えられていて現在の全く異なるクラスを構成するようになったことを示唆している。	
665	CCA-adding enzyme (ATP binding type)		1UEV	released	2003. 12. 2	ATP結合型、鋳型非依存的RNAポリメラーゼの一つ、CCA付加酵素[ATP8cTP]:tRNAヌクレオチド転位酵素]は「シチジン-シチジン-アデニン」配列という決められた配列をtRNAの3'末端に付加する。古細菌CCA付加酵素(クラスI)と真正細菌/真核生物CCA付加酵素(クラスII)はわずかなアミノ酸配列相同性を示すが、同一の反応を決まった仕方では触媒する。我々は、Archaeoglobus fulgidus由来クラスI古細菌CCA付加酵素、CTP又はATPと結合した酵素の複合体のそれぞれ2.0、2.0、2.7 Å分解能での結晶構造をここに発表する。カルボン酸塩触媒の位置と、CTP、ATPのシングル触媒部位に対する相対的位置は、両クラスのCCA付加酵素間でかなり保存されているが、触媒中心を除く全体的な構造は根本的に異なっている。さらには、基質であるヌクレオチドとtRNAの認識メカニズムはこの2つのクラス間では全く異なるが、クラスIとクラスII酵素の触媒ドメインは共通の起源を持ち、特徴的な基質認識ドメインが加えられていて現在の全く異なるクラスを構成するようになったことを示唆している。	
666	conserved hypothetical protein (TT1561)		1UF3	released	2003. 11. 23	高度好熱菌由来のタンパク質であるTT1561は、1次配列から機能が同定されていないタンパク質である。セレノメチオニン置換タンパク質の結晶を用いて多波長異常分散法(MAD)で、このタンパク質の構造を分解能2.1 Åで決定した。このタンパク質は、αββαが4層に重なり合うフォールドを形成している。この構造と似た高次構造を持つタンパク質を、構造比較プログラム(Dali)を用いて調べたところ、TT1561の構造はMre11 nucleaseとpurple acid phosphataseと高い相同性を持つことがわかった。この2つのタンパク質は、Metallo-dependent phosphatase superfamilyに属し、2つの金属イオンが活性部位に結合して酵素反応が進む。これらのタンパク質は、共通の配列モチーフを持つが、TT1561にはそのモチーフが完全に保存されていない。また、TT1561の結晶化条件の中にカルシウムイオンが含まれるが、構造を決定したところそのカルシウムイオンがタンパク質に結合していることがわかった。しかし、その結合位置はMetallo-dependent phosphatase superfamilyの金属結合部位とは異なっていた。カルシウムイオンの結合位置から結晶化の際のバックギンクに関与していると考えられる。機能未知タンパク質の構造を決定することにより、そのタンパク質の機能を予測することができた。機能はまだ同定できていないが、共通のモチーフが完全に保存されていないことから、活性部位のアミノ酸の揺らぎや基質の違いなどが関係しているかもしれない。構造類似と機能の関係は議論の対象となると考えられる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
667	TT1252 (CoaE)		1UF9	released	2003. 11. 28	この蛋白質は当初1次配列の解析からスクレオチド結合タンパク質TT1252として構造解析がはじめられた。結晶構造はセレノメチオニンを用いたMAD法により解析され、解析の結果DCKとの類似性が見出された。DCKはCoAの生成における最終ステップを担う酵素である。そこで基質であるATPとdephospho-CoAを用いた酵素活性実験を行なったところ実際にCoAの生成が確認された。また結晶構造は基質の一つであるATPを含むものと含まない両方の構造が同時に観察された。これらスクレオチド結合蛋白質は誘導適合により基質の取り込みをすることが知られている。本結晶構造中における2つの構造の比較は基質取り込みによる各ドメインの動きを観察する上で興味深い。酵素タンパク質では活性部位の情報不可欠であるが、それと同時に“動き”のあるタンパク質に対してはこの動きを理解することが活性の制御にとって重要である。このような蛋白に対する薬剤を用いた活性の制御(阻害、促進)としては従来の活性部位に対する直接のアプローチのほかに蛋白の動きを制御するというアプローチも可能となり、多様な薬剤の設計(例えば副作用の低減など)について考える上で大きな利点となる。	
668	TT1467		1UFA	released	2003. 11. 28	TT1467は機能未知タンパク質であり、結晶構造を2.2Åの分解能で決定した。格子定数は $a = 119.376 = @b = 119.376 = @c = 73.898 = @\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ 空間群はP42212であった。非対称単位あたり一分子存在していた。7本のβ鎖よりなるパレル構造の外側に11本のαヘリックスと短い7本のβ鎖がとり囲んでおり、2本のαヘリックスからなる構造と5本のαヘリックスからなる構造が、その外側にはりついているといった構造をとっていた。	
669	conserved hypothetical protein (TT1696)		1UFB	released	2003. 11. 28	TT1696は機能未知タンパク質であり、Thermus thermophilusではこのタンパク質のホモログが4つ知られているが、全て機能未知である。結晶構造を1.9Åの分解能で決定した。格子定数は $a = 80.080 = @b = 134.326 = @c = 123.066 = @\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ であった。空間群はC2221であり、非対称単位あたり四分子存在していた。単量体は5本のαヘリックスの束を形成していた。対称操作により、非対称単位中の二量体同士が四量体を形成し、中心に空洞をもつドーナツ状の構造をとっている。この空洞に面するアミノ酸残基は保存性が高く、ここが活性部位であることが推測される。	
670	CEMP-B	dimerization domain	1UFI	released	2004. 2. 17	今回構造を決定したCENP-B dimerization domainは、セントロメアに局在するCENP-Bタンパク質のC末端側に位置し、ホモ二量体を形成することが知られている。また、N末端側の125アミノ酸はCENP-B boxと呼ばれるDNA配列に結合することから、CENP-Bはセントロメア領域のDNAを特殊な構造に折りたたむ役割を担っていると推測されている。構造解析の結果、CENP-B dimerization domainは一分子に二つのαヘリックスがあり、計四つのαヘリックスからなっていた。また二つの分子はアンチパラレルで、4つの水素結合と、ファンデルワールス力によって結合していた。このことから、ホモ二量体を形成しているCENP-BのN末端は互いに反対方向に延びており、染色体をコンパクトに折りたたんでいると考えられる。近年、ヒト細胞の中で安定に存在する染色体を人工的に構築しようとする試みが盛んに行われている。その染色体を用いて、目的とする遺伝子を細胞内に導入することで、遺伝子治療等の様々な分野への応用が期待されている。その人工染色体を構築する上でセントロメアは必須な染色体領域の一つである。さらに、新規に構築されたヒトセントロメアが機能するためには、CENP-Bは最も重要なタンパク質の一つであると考えられている。今回のCENP-B dimerization domainの構造から、CENP-Bによるセントロメア領域でのDNAの折りたたみ構造についての知見を得ることができた。この知見を活かして、より安定に細胞内に存在できる人工染色体が設計されることが期待される。	
671	Probable (ribosomal protein L11) methyltransferase		1UFK	released	2003. 11. 30	PrmAは、原核生物に広く保存されているAdoMet依存性メチル転移酵素であり、リボソームタンパク質L11のアミノ酸残基を3カ所でトリメチル化する。L11はC端ドメインでリボソームRNAと結合しており、リボソームに結合する因子群との相互作用には、N端ドメインが関与していることが示唆されている。PrmAによる修飾部位が全てこのN端ドメインに集中していることから、L11の特定のアミノ酸残基のメチル化が、タンパク質合成や栄養飢餓応答に重要な役割を果たしている可能性が高い。	
672	conserved hypothetical protein (TT1662)		1UFO	released	2003. 12. 3	高度好熱菌由来タンパク質TT1662はセレノメチオニン変異体を用いたMAD法により1.6Åの分解能で解析された。解析された構造はホモダイマーを形成しており、動的な光散乱を用いた実験でも溶液中でダイマーを形成していることが示された。その後、類似構造探索プログラムにより既知構造と比較された。その結果、加水分解酵素(リパーゼ、プロテアーゼ、ペプチダーゼ等)と高い構造類似性を示した。またこれらの酵素に共通する触媒部位も配列、構造ともにTT1662において保存されており、このタンパク質が加水分解反応を触媒するものと考えられる。高分解能結晶構造解析はより精密なタンパク質の座標データを提供する。コンピューターなどを用いた医薬品の設計の際、このような座標データはより高い精度の計算をする上で非常に有用であり、タンパク質のより詳細な解析を可能にすると考えられる。加水分解酵素は生体反応において広く見られるものであり、洗剤等の工業的な応用から抗血栓薬などの医薬品への応用まで広く用いられており、このタンパク質の詳細な解析から得られる知見は少なくないと考えられる。	
673	PyrR (TT1027)		1UFR	released	2003. 12. 8	Thermus thermophilus HB由来、TT1027 (PyrR) を分子置換法によって2.6Å分解能にて構造決定した。この分子は4個のαヘリックス(α1-4: 10-27, 43-58, 110-121, 165-168)と9個のβ-ストランド(β1-9: 3-8, 34-38, 64-69, 85-90, 98-106, 127-135, 147-151, 159-163, 172-176)から構成されるα+β型構造をとっている。主鎖のトポロジーはα4ヘリックスを除いてBacillus subtilis PyrRとよく一致するBacillus subtilis PyrRではD74-S81の構造が乱れていたが、Thermus thermophilus PyrRではR72-V85の構造が乱れていた。両者はrmsdが1.5Å程度であり、ほとんど一致している。基本的には既報のBacillus subtilis PyrRと構造は極めて一致しており、機能解明されていない好熱菌PyrRにおいても蛋白質の性質は極めて類似しているという知見を与えた。現在Bacillus subtilisで機能解析が進んでおり、その成果を利用して立体構造とてらし合わせて好熱菌PyrRの機能を推定していくことが期待される。	
674	Pantothenate synthetase		1UFV	released	2003. 6. 24	Pantothenate synthetase (PS)はパントテン酸合成経路の最後の酵素であり、coenzyme A (CoA) と acyl carrier proteins (ACP)の生成の前駆体である。ATP依存性反応で、パントイン酸とβ-アラニンの縮合を触媒する。高度好熱菌PSの結晶構造を解像度1.90 Åと2.05 Å (one mutation)で決定した。構造は二量体で、各サブユニットは2つのドメインを持ち、それらは強固に結合している。大きなN末ドメインはRossmannフォールドを持ち、より小さな2層のC末ドメインは3ストランドの逆並行βシートにヘリカルレイヤーを持つ。大腸菌由来のPSや結核菌由来のPSとの比較で、活性部位がスクレオチド結合タンパク質に典型的な中央の並行βシートに位置していることがわかる。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
675	Chorismate mutase		1UFY	released	2003. 7. 1	シキミ酸経路は芳香族アミノ酸の生産を行っており、細菌類、真菌類、高等植物に見られるが、動物には見られない。コリスミ酸ムターゼはこの経路中の重要な酵素で、コリスミ酸からプレフェン酸への転位の触媒を行っている。プレフェン酸はその後チロシンやフェニルアラニンといった芳香性化合物へ変換することが可能である。枯草菌コリスミ酸ムターゼのそれぞれ、溶液、プレフェン酸、遷移状態アナログ、を活性部位を含む結晶構造が既に解析されている。我々は、高度好熱菌HB8由来コリスミ酸ムターゼの構造を分子置換法を用いて1.65 Å分解能で解析した。高度好熱菌コリスミ酸ムターゼはホモ三量体で、各モノマーのβシートがパッキングされて、ヘリックスモチーフが三量体の外側に位置する偽性αβバレル構造の中核を構成するという、枯草菌コリスミ酸ムターゼと似た構造を持つ。活性部位の構造は幾つかの小さな違い(例えば、枯草菌コリスミ酸ムターゼのCys75とVal73は高度好熱菌HB8ではSer74とLeu72にそれぞれ置き換えられている)を別にすれば、両者間で保存されており、違いは酵素の活性に決定的な影響を与えている様子は見受けられない。我々は1.0 Åより高い回折をする結晶を持っているので、この結晶構造解析を行って、この酵素のさらに細部にわたる構造を解析するつもりである。	
676	beta-glucosidase		1UG6	released	2003. 6. 24	多糖の分解を担うβグルコシダーゼの立体構造を解明。環境に優しい生化学的な手法により、バイオマス資源を地域エネルギーや工業原材料、食品素材、医薬品原料等に変換する技術を開発するための基礎として活用できる。	
677	DEAD-box RNA helicase Dugesia japonica vasa-like gene B (DjVLGB)	RecA like domain	1UGZ	on_hold		DjVLGBは、プラナリアの生殖細胞に特異的に発現するDEAD-box型RNAヘリカーゼであり、PL10サブファミリーに属している。PL10サブファミリーは、初期発生や生殖細胞の形成において特異的に発現し、重要な働きを担っていると考えられている。DjVLGBの構造解析を行うと、そのATPase活性部位(全てのDEAD-box RNAヘリカーゼに共通する部位)の反対側に、特徴的なポケットと芳香族性アミノ酸残基が見出された。この部位の局所的な構造は代表的なRNA結合ドメインRBDのRNA結合部位、またはタンパク質間相互作用ドメインSH3ドメインのプロリン結合部位の一部に酷似している。したがって、この部位に変異を導入することによって、DjVLGBの機能を一助となるかもしれない。DjVLGBはすでに構造の明らかにされているDEAD-box RNAヘリカーゼのひとつなので特に構造生物学的な新鮮さはないが、ATPase活性部位の反対側に存在する、芳香族性アミノ酸残基からなるポケットは他のDEAD-box RNAヘリカーゼに存在しない、PL10サブファミリーに独自の構造であり、非常に興味深い。今回の構造解析によって、PL10サブファミリーが、他のタンパク質やRNAと相互作用する可能性が示唆された。この構造解析の成果をもとに、PL10サブファミリーの機能解析を行うことによって、生殖腺に関する疾患との関連を調べて、不妊治療などの生殖医療につなげることができるとも知れない。	
678	uracil DNA glycosylase		1UI0	released	2003. 10. 14	DNA中に生じたウラシル塩基を除去する酵素(ウラシルDNAグリコシラーゼ)の立体構造を、ウラシルとの複合体として解明した。これまでに報告されている他種のものとは異なり、4Fe-4S型の鉄硫黄クラスターをもつ新しいタイプのウラシルDNAグリコシラーゼが、ウラシルを特異的に認識する様子を観察した。ウラシルDNAグリコシラーゼに作用するタイプの抗菌剤の開発につながる情報を提供できる。ウラシルは、シトシンの脱アミノ化やDNAポリメラーゼによる複製時の誤った取り込みによってDNA中に高い頻度で生じる障害の1つなので、修復されないままでは突然変異が蓄積し、遺伝情報が破壊されてしまう。そのことを利用して、細菌の増殖を抑制する薬剤を設計する際に、決定した立体構造の情報が役にたつと期待できる。	
679	uracil DNA glycosylase		1UI1	released	2003. 10. 14	DNA中に生じたウラシル塩基を除去する酵素(ウラシルDNAグリコシラーゼ)の立体構造を、ウラシルとの複合体として解明した。これまでに報告されている他種のものとは異なり、4Fe-4S型の鉄硫黄クラスターをもつ新しいタイプのウラシルDNAグリコシラーゼが、ウラシルを特異的に認識する様子を観察した。ウラシルDNAグリコシラーゼに作用するタイプの抗菌剤の開発につながる情報を提供できる。ウラシルは、シトシンの脱アミノ化やDNAポリメラーゼによる複製時の誤った取り込みによってDNA中に高い頻度で生じる障害の1つなので、修復されないままでは突然変異が蓄積し、遺伝情報が破壊されてしまう。そのことを利用して、細菌の増殖を抑制する薬剤を設計する際に、決定した立体構造の情報が役にたつと期待できる。	
680	chorismate mutase		1UI9	released	2003. 7. 29	シキミ酸経路は芳香族アミノ酸の生産を行っており、細菌類、真菌類、高等植物に見られるが、動物には見られない。コリスミ酸ムターゼはこの経路中の重要な酵素で、コリスミ酸からプレフェン酸への転位の触媒を行っている。プレフェン酸はその後チロシンやフェニルアラニンといった芳香性化合物へ変換することが可能である。枯草菌コリスミ酸ムターゼのそれぞれ、溶液、プレフェン酸、遷移状態アナログ、を活性部位を含む結晶構造が既に解析されている。我々は、高度好熱菌HB8由来コリスミ酸ムターゼの構造を分子置換法を用いて1.65 Å分解能で解析した。高度好熱菌コリスミ酸ムターゼはホモ三量体で、各モノマーのβシートがパッキングされて、ヘリックスモチーフが三量体の外側に位置する偽性αβバレル構造の中核を構成するという、枯草菌コリスミ酸ムターゼと似た構造を持つ。活性部位の構造は幾つかの小さな違い(例えば、枯草菌コリスミ酸ムターゼのCys75とVal73は高度好熱菌HB8ではSer74とLeu72にそれぞれ置き換えられている)を別にすれば、両者間で保存されており、違いは酵素の活性に決定的な影響を与えている様子は見受けられない。我々は1.0 Åより高い回折をする結晶を持っているので、この結晶構造解析を行って、この酵素のさらに細部にわたる構造を解析するつもりである。	
681	threonine synthase (orthorhombic crystal form)		1UIM	released	2003. 11. 18	本酵素は、fold type IIのピリドキサル5α-リン酸(PLP)依存型酵素に分類され、トレオニン合成系の最終段階の反応を触媒する。この反応では、L-ホモセリンリン酸のβ、γ置換反応により、L-トレオニンと無機リン酸を生成する。高等動物と植物はトレオニン合成系を持たないので、ThrSは抗生物質や除草剤開発のためのターゲット酵素である。	
682	Threonine synthase (trigonal crystal form)		1UIN	released	2003. 11. 18	ビタミンB6酵素で、トレオニン合成系の最終ステップを触媒する。本酵素は、O-ホスホホモセリンのβ置換、γ脱離反応によりトレオニンと無機リン酸を生成する。トレオニン合成系は動物と植物では存在しないので、抗生物質、除草剤開発のターゲット酵素として研究されている。ビタミンB6酵素のフォールドタイプIIに属するダイマー酵素である。サブユニットは大ドメイン、小ドメイン、スワップドメインからなり、硫酸イオンを含んでいる。ドメインインターフェースにある活性部位にビタミンB6が結合している。基質結合時に小ドメインが動き活性部位を閉じる。基質のリン酸基が結合する部位と考えられる部位に、硫酸イオンが結合している。	
683	polyamine aminopropyltransferase		1UIR	released	2003. 8. 5	T. thermophilus HB8は他の細菌に比べポリアミン組成が特異である。本酵素はポリアミン合成系に働く酵素であり、新規の構造である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
684	Enoyl-CoA hydratase		1UIY	released	2003.8.5	enoyl-coenzyme (CoA) hydratase (ECH)は、ベストな基質に対してほとんどの拡散律速反応である水から $\alpha$ 、 $\beta$ -unsaturated enoyl-CoA thioestersへの可逆的な添加を触媒する。これは、脂肪酸代謝の生理的に重要な $\beta$ 酸化経路での第二段階である。Tt ECHの構造は、2.85 Å分解能で測定した。その分子は2つの三量体で六量体を形成し、そしてwide cleftsは2つの三量体の間に唯一形成される。4つのターンの中のせんの中折りたまたまれているモノマーは、三量体形成に関与している2つの小さいドメインに続く。それぞれのらせんのターンは、2つの $\beta$ ストランドと1つの $\alpha$ ヘリックスから成る。	
685	ribose-5-phosphate isomerase		1UJ4	released	2004.7.13	生物すべての細胞に存在する糖代謝の中心的必須酵素であるRIPのTt由来のタンパク質の高分解構造の解明とその反応メカニズム解明のための第一歩。	
686	ribose-5-phosphate isomerase (complexed with ribose-5-phosphate)		1UJ5	released	2004.7.13	生物すべての細胞に存在する糖代謝の中心的必須酵素の反応中間体の高分解構造のはじめて明らかにしてそのメカニズムを解明した。今回の機能解析構造解析の結果、これまで知られているTIM、GlucosephosphateIsomeraseなどと違ってほとんど完全な立体特異的異性化反応を進めていることが明らかになりその反応特異性を支える構造基盤を明らかにできた。今後ますます必要となる立体特異合成における指針を与えるものである。	
687	ribose-5-phosphate isomerase (complexed with arabinose-5-phosphate)		1UJ6	released	2004.7.13	生物すべての細胞に存在する糖代謝の中心的必須酵素の基質立体異性阻害剤A5Pとの複合体解析によりその極めて高い基質の立体特異性のメカニズムを解明した。今回の機能解析構造解析の結果、これまで知られているTIM、GlucosephosphateIsomeraseなどと違ってほとんど完全な立体特異的異性化半の王を進めていることが明らかになりその反応特異性を支える構造基盤を明らかにできた。今後ますます必要となる立体特異合成における指針を与えるものである。	
688	Dehydroquinase synthase		1UJN	released	2003.9.2	デヒドロキネート合成酵素 (DHQS) はシキミ酸経路における5つの一連の反応を触媒する多機能酵素であり、人間と下等生物における代謝経路の違いを利用した抗生物質の開発等に有用性がある。今回我々はThermus thermophilus HB8由来DHQSの結晶構造を、MR法により1.8Å分解能で決定した。本酵素は2ドメインを持つサブユニットが2つ会合した二量体をとっており、既に報告されているAspergillus nidulans由来酵素の結晶構造と類似していた。我々は結晶構造の比較から、由来生物の生育温度の違いに関わらず二量体接触面の構造がよく保存されていることを見出し、DHQSの二量体構造は酵素機能に重要な役割を果たしているが耐熱性には寄与しないと結論した。	
689	Tryptophan synthase		1UJP	released	2003.8.26	トリプトファン生合成経路の最後の酵素であるトリプトファン合成酵素は2種類のサブユニットa (TrpA) およびb (TrpB) が各々2つ会合したヘテロ四量体を作り、インドール3-グリセロールリン酸とセリンからトリプトファンとグリセルアルデヒド3-リン酸および水を生成する反応を触媒する。TrpAはこの反応の前半、インドール3-グリセロールリン酸の、インドールとグリセルアルデヒド3-リン酸への分解を触媒する。今回我々はThermus thermophilus HB8由来TrpAの結晶構造を、MR法により1.35Å分解能で決定した。本酵素は $\alpha/\beta$ バレル構造をとっており、既に結晶構造が報告されている様々な生物種由来酵素の結晶構造と類似していた。現在、結晶構造の比較によりTrpAの分子進化および耐熱化機構について検討中である。	
690	Osmotically inducible protein C		1UKK	released	2004.5.4	MAD法により高度好熱菌浸透圧誘導タンパク質Cの結晶構造を決定した。非対称ユニットに存在する強固に相互作用する単量体は、非結晶性の二つ折り構造 (two-fold) をとっている。二量体は、コアに非常に長い、逆並行の、オーバーラップした2つの $\alpha$ ヘリックス構造をとっており、外側に6ストランドの逆並行 $\beta$ シートを持つ。 $\beta$ シートについては、両単量体が3つのストランドを形成し、それらが構造のintertwiningを引き起こす。活性部位は一方の単量体由来システイン2つと、もう一方の単量体由来のアルギニンとグルタミン酸 (それぞれ1つ) から成っている。酵素活性の測定により、本タンパク質がhydroperoxide peroxidase活性を有する酵素であることが判明した。	
691	Vasa		1UKN	on_hold		D. melanogaster vasa・RNA・ATPアナログ三重複合体。DEAD-box ファミリーに属するRNAヘリカーゼであり、ヒトを含む多くの動物で生殖細胞に重要なタンパク質である。反応サイクルにおけるATP結合型の構造を初めて決定しRNAヘリカーゼの反応機構を解明した。	
692	acyl-CoA dehydrogenase (medium-chain)		1UKW	released	2004.11.9	解明の遅れている一連の脂質代謝酵素の立体構造解析を行った。構造を得ることで、機能解明に知見を与える。	
693	methionyl-tRNA synthetase (with Met-AMS (Met-AMP analog))		1UL0	on_hold		このタンパク質はアミノアシル-tRNA合成酵素の一種でtRNAとメチオニンの結合反応を触媒する酵素である。アミノアシル-tRNA合成酵素とは20種類のアミノ酸を翻訳中のRNAポリメラーゼに運ぶ役割をするtRNAと、それぞれに対応するアミノ酸を結合させる合成反応を担う酵素である。もしアミノアシル-tRNA合成酵素が基質であるアミノ酸を間違えるような事があれば、DNA上の情報に忠実に従ったタンパク質合成を行うことは不可能になるため、細胞内の生化学反応に非常に混乱をもたらすことは明白である。加えて、開始コドンAUGはメチオニンのコドンでもあるため、メチオニル-tRNA合成酵素はDNA→メッセンジャーRNA→タンパク質という生物学的情報の流れのなかで必要不可欠な役割を占めている。著者達は1998年に同じ酵素の基質結合をしていない型の構造を解析しているが (PDB ID: 1ASH)、今回は基質の一つであるアミノ酸メチオニンの構造的アナログに結合した型の構造の解析に成功した。ヒトを含む真核生物と細菌類では構造の違いがあるため、アミノアシル-tRNA合成酵素は抗菌剤のターゲットとなっているが、特に開始コドンAUGはメチオニンのコドンでもあるため細菌由来メチオニル-tRNA合成酵素と真核生物由来メチオニル-tRNA合成酵素を識別できる阻害剤の開発は抗菌剤として大きな可能性を秘めている。そのためにはそれぞれの構造を解析し、構造上の違いを明らかにする必要がある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
694	tryptophanyl-tRNA synthetase		IULH	released	2004. 2. 3	Human TrpRSは、血管内皮細胞の細胞外領域へ分泌され、そのスプライス変異体 (mini TrpRS) は血管新生を抑制するサイトカインとして血管内皮の細胞アポトーシスにおいて機能するが、反対に近縁のHuman TrpPSは、その切断型 (mini TrpRS) において、血管形成のサイトカインとして機能する。Human mini TyrRSが結晶解析され、原核生物TrpRSとHuman mini TyrRSが比較したところ、TABドメイン挿入の欠損が、内皮細胞の酵素アポトーシス活性を無効にする一方で、翻訳的触媒作用と細胞結合活性が無変化であった。この研究において、血管新生抑制のシグナリング伝達を活性にするペプチドモチーフを同定した。立体構造に基づいたmini TrpRSの機能解析を今後詳細に行うことにより、サイトカインとしての活性部位が明らかになるであろう。これにより、異常な血管新生によって引き起こされる疾患に対する有効な薬剤の開発に応用できる可能性がある。特に、ガン細胞の引き起こす血管新生を抑制することで、ガンの進行、転移を抑えることができると期待される。	
695	acetyl-CoA acetyltransferase		IULQ	released	2004. 11. 2	解明の遅れている一連の脂質代謝酵素の立体構造解析を行った。構造を得ることで、機能解明に知見を与える。	
696	putative acylphosphatase		IULR	released	2004. 11. 2	コンパクトな酵素の超高分解能構造解析を行った。機能解析中。	
697	3-oxoacyl-acyl carrier protein reductase		IULS	released	2004. 11. 2	解明の遅れている一連の脂質代謝酵素の立体構造解析。構造を得ることで、機能解明に知見を与える。	
698	medium chain fatty acid-CoA ligase w/apo		IULT	released	2004. 7. 27	脂質分解の最初の酵素のはじめての構造解析により、その2段階反応の酵素メカニズムを解明した。	
699	enoyl-acyl carrier protein reductase w/apo		IULU	released	2004. 11. 2	解明の遅れている一連の脂質代謝酵素の立体構造解析。構造を得ることで、機能解明に知見を与える。	
700	2-oxoisovalerate dehydrogenase, E1 component alpha subunit 2-oxoisovalerate dehydrogenase, E1 component beta subunit		IUM9	released	2004. 3. 30	分岐鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の生体内での分解反応は、脱アミノ化され生じた分岐鎖2オキソ酸が、分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼによりアシルCoAに変換されることにより進行する。分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼは、3種類の酵素成分(E1, E2, E3)からなる多酵素複合体である。本複体の第一成分であるE1は、ビタミンB1誘導体であるチアミン2リン酸(ThDP)を補酵素にもつ $\alpha$ 2 $\beta$ 2テトラマー酵素である。E1は、分岐鎖2オキソ酸を脱炭酸し反応中間体であるヒドロキシルキル-ThDPを生成する反応と、それに引き続きヒドロキシルキル基をE2上のリポアミド基に転移する反応を触媒する。本研究では、E1の触媒機構の解明を目的として、Thermus thermophilus HB8由来のE1の結晶構造解析をおこなった。まずE1の $\alpha$ および $\beta$ サブユニットを大腸菌で共発現させることにより可溶性画分に回収すること成功し、安定な複合体として精製することができた。次に、結晶化および回折データ収集をおこない、アポ酵素、ホロ酵素、ES複合体モデルとしてE1・基質アナログ(4メチル吉草酸)複合体、実際の反応中間体としてE1・基質(2オキソ4メチル吉草酸)複合体の立体構造を決定した。その結果、E1はThDPを取り込むと2本のループの構造が固定され、補酵素結合部位に蓋をすることが明らかになった。基質アナログとの複合体では、Gly121 $\beta$ _Gln131 $\beta$ からなるループが活性部位に近づき4メチル吉草酸と相互作用していた。また、4メチル吉草酸のカルボキシル基はおもにTyr86 $\beta$ およびThDPのN4*により認識され、疎水性部分はPhe66 $\alpha$ 、Tyr95 $\alpha$ 、Met128 $\alpha$ およびHis131 $\alpha$ により認識されることが明らかになった。一方、基質との複合体では、2オキソ4メチル吉草酸が脱炭酸されThDPと共有結合し反応中間体を形成していた。また、E1・基質アナログ複合体において活性部位に近づいたループが、E1・基質複合体では基質非結合型とほぼ同じ構造をとっていた。以上の結果から、E1はES複合体を形成するときのみ閉鎖型に構造変化し、そのループが基質のカルボキシル基の認識に関与することが示唆された。また、決定した構造に基づいて構築した2種類のES複合体のドッキングモデルより、His273 $\alpha$ およびHis129 $\beta$ が反応時にプロトン供与体として働くことが示唆された。	
701	2-oxoisovalerate dehydrogenase, E1 component (complexed with thiamin diphosphate)		IUMB	released	2004. 3. 30	分岐鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の生体内での分解反応は、脱アミノ化され生じた分岐鎖2オキソ酸が、分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼによりアシルCoAに変換されることにより進行する。分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼは、3種類の酵素成分(E1, E2, E3)からなる多酵素複合体である。本複体の第一成分であるE1は、ビタミンB1誘導体であるチアミン2リン酸(ThDP)を補酵素にもつ $\alpha$ 2 $\beta$ 2テトラマー酵素である。E1は、分岐鎖2オキソ酸を脱炭酸し反応中間体であるヒドロキシルキル-ThDPを生成する反応と、それに引き続きヒドロキシルキル基をE2上のリポアミド基に転移する反応を触媒する。本研究では、E1の触媒機構の解明を目的として、Thermus thermophilus HB8由来のE1の結晶構造解析をおこなった。まずE1の $\alpha$ および $\beta$ サブユニットを大腸菌で共発現させることにより可溶性画分に回収すること成功し、安定な複合体として精製することができた。次に、結晶化および回折データ収集をおこない、アポ酵素、ホロ酵素、ES複合体モデルとしてE1・基質アナログ(4メチル吉草酸)複合体、実際の反応中間体としてE1・基質(2オキソ4メチル吉草酸)複合体の立体構造を決定した。その結果、E1はThDPを取り込むと2本のループの構造が固定され、補酵素結合部位に蓋をすることが明らかになった。基質アナログとの複合体では、Gly121 $\beta$ _Gln131 $\beta$ からなるループが活性部位に近づき4メチル吉草酸と相互作用していた。また、4メチル吉草酸のカルボキシル基はおもにTyr86 $\beta$ およびThDPのN4*により認識され、疎水性部分はPhe66 $\alpha$ 、Tyr95 $\alpha$ 、Met128 $\alpha$ およびHis131 $\alpha$ により認識されることが明らかになった。一方、基質との複合体では、2オキソ4メチル吉草酸が脱炭酸されThDPと共有結合し反応中間体を形成していた。また、E1・基質アナログ複合体において活性部位に近づいたループが、E1・基質複合体では基質非結合型とほぼ同じ構造をとっていた。以上の結果から、E1はES複合体を形成するときのみ閉鎖型に構造変化し、そのループが基質のカルボキシル基の認識に関与することが示唆された。また、決定した構造に基づいて構築した2種類のES複合体のドッキングモデルより、His273 $\alpha$ およびHis129 $\beta$ が反応時にプロトン供与体として働くことが示唆された。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
702	2-oxoisovalerate dehydrogenase, E1 component (complexed with 4-methylpentanoate)		1UMC	released	2004. 3. 30	分岐鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の生体内での分解反応は、脱アミノ化され生じた分岐鎖2オキソ酸が、分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼによりアシルCoAに変換されることにより進行する。分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼは、3種類の酵素成分(E1, E2, E3)からなる多酵素複合体である。本複合体の第一成分であるE1は、ビタミンB1誘導体であるチアミン2リン酸(ThDP)を補酵素にもつ $\alpha$ 2 $\beta$ 2テトラマー酵素である。E1は、分岐鎖2オキソ酸を脱炭酸し反応中間体であるヒドロキシアルキル-ThDPを生成する反応と、それに引き続きヒドロキシアルキル基をE2上のリボアミド基に転移する反応を触媒する。本研究では、E1の触媒機構の解明を目的として、Thermus thermophilus HB8由来のE1の結晶構造解析をおこなった。まずE1の $\alpha$ および $\beta$ サブユニットを大腸菌で共発現させることにより可溶性画分に回収すること成功し、安定な複合体として精製することができた。次に、結晶化および回折データ収集をおこない、アポ酵素、ホロ酵素、ES複合体モデルとしてE1・基質アナログ(4メチル吉草酸)複合体、実際の反応中間体としてE1・基質(2オキソ4メチル吉草酸)複合体の立体構造を決定した。その結果、E1はThDPを取り込むと2本のループの構造が固定され、補酵素結合部位に蓋をすることが明らかになった。基質アナログとの複合体では、Gly121 $\beta$ _Gln131 $\beta$ からなるループが活性部位に近づき4メチル吉草酸と相互作用していた。また、4メチル吉草酸のカルボキシル基はおもにTyr86 $\beta$ およびThDPのN4*により認識され、疎水性部分はPhe66 $\alpha$ 、Tyr95 $\alpha$ 、Met128 $\alpha$ およびHis131 $\alpha$ により認識されることが明らかになった。一方、基質との複合体では、2オキソ4メチル吉草酸が脱炭酸されThDPと共有結合し反応中間体を形成していた。また、E1・基質アナログ複合体において活性部位に近づいたループが、E1・基質複合体では基質非結合型とほぼ同じ構造をとっていた。以上の結果から、E1はES複合体を形成するときのみ閉鎖型に構造変化し、そのループが基質のカルボキシル基の認識に関与することが示唆された。また、決定した構造に基づいて構築した2種類のES複合体のドッキングモデルより、His273 $\alpha$ およびHis129 $\beta$ が反応時にプロトン供与体として働くことが示唆された。	
703	2-oxoisovalerate dehydrogenase, E1 component (complexed with 4-methyl-2-oxopentanoate)		1UMD	released	2004. 3. 30	分岐鎖アミノ酸(バリン、ロイシン、イソロイシン)の生体内での分解反応は、脱アミノ化され生じた分岐鎖2オキソ酸が、分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼによりアシルCoAに変換されることにより進行する。分岐鎖2オキソ酸デヒドロゲナーゼは、3種類の酵素成分(E1, E2, E3)からなる多酵素複合体である。本複合体の第一成分であるE1は、ビタミンB1誘導体であるチアミン2リン酸(ThDP)を補酵素にもつ $\alpha$ 2 $\beta$ 2テトラマー酵素である。E1は、分岐鎖2オキソ酸を脱炭酸し反応中間体であるヒドロキシアルキル-ThDPを生成する反応と、それに引き続きヒドロキシアルキル基をE2上のリボアミド基に転移する反応を触媒する。本研究では、E1の触媒機構の解明を目的として、Thermus thermophilus HB8由来のE1の結晶構造解析をおこなった。まずE1の $\alpha$ および $\beta$ サブユニットを大腸菌で共発現させることにより可溶性画分に回収すること成功し、安定な複合体として精製することができた。次に、結晶化および回折データ収集をおこない、アポ酵素、ホロ酵素、ES複合体モデルとしてE1・基質アナログ(4メチル吉草酸)複合体、実際の反応中間体としてE1・基質(2オキソ4メチル吉草酸)複合体の立体構造を決定した。その結果、E1はThDPを取り込むと2本のループの構造が固定され、補酵素結合部位に蓋をすることが明らかになった。基質アナログとの複合体では、Gly121 $\beta$ _Gln131 $\beta$ からなるループが活性部位に近づき4メチル吉草酸と相互作用していた。また、4メチル吉草酸のカルボキシル基はおもにTyr86 $\beta$ およびThDPのN4*により認識され、疎水性部分はPhe66 $\alpha$ 、Tyr95 $\alpha$ 、Met128 $\alpha$ およびHis131 $\alpha$ により認識されることが明らかになった。一方、基質との複合体では、2オキソ4メチル吉草酸が脱炭酸されThDPと共有結合し反応中間体を形成していた。また、E1・基質アナログ複合体において活性部位に近づいたループが、E1・基質複合体では基質非結合型とほぼ同じ構造をとっていた。以上の結果から、E1はES複合体を形成するときのみ閉鎖型に構造変化し、そのループが基質のカルボキシル基の認識に関与することが示唆された。また、決定した構造に基づいて構築した2種類のES複合体のドッキングモデルより、His273 $\alpha$ およびHis129 $\beta$ が反応時にプロトン供与体として働くことが示唆された。	
704	SBD-Fbs1(sugar-recognizing ubiquitin ligase)		1UMH	released	2004. 4. 6	ユビキチンリガーゼの一つ、Fbs1の糖結合ドメインで、高マンノース少糖類を認識する。このことからFbs1は、粗面小胞体のタンパク質品質管理機構の一員としてではない糖タンパク質N型糖鎖を認識し、分解経路へ送り込む事に関わっていると考えられる。Fbs1の糖結合ドメインは、2つの $\alpha$ ヘリックスを含む、10枚の逆平行 $\beta$ ストラッドサンドイッチで構成される楕円体であるが、これまでに報告されたF-boxタンパク質の基質結合部位のフォールドとは全く異なるものである。高マンノース糖タンパク質の1つにApoBがあるが、このタンパク質のミスフォールディングがアテローム性動脈硬化症に関わっているのではないかと言われているので、疾病治療への応用が期待される。	
705	SBD-C132A-Fbs1-chitobiose-complex(mutant)(sugar-recognizing ubiquitin ligase(chitobiose-complex)(mutant))		1UMI	released	2004. 4. 6	ユビキチンリガーゼの一つ、Fbs1の糖結合ドメインで、高マンノース少糖類を認識する。このことからFbs1は、粗面小胞体のタンパク質品質管理機構の一員としてではない糖タンパク質N型糖鎖を認識し、分解経路へ送り込む事に関わっていると考えられる。Fbs1の糖結合ドメインは、2つの $\alpha$ ヘリックスを含む、10枚の逆平行 $\beta$ ストラッドサンドイッチで構成される楕円体であるが、これまでに報告されたF-boxタンパク質の基質結合部位のフォールドとは全く異なるものである。高マンノース糖タンパク質の1つにApoBがあるが、このタンパク質のミスフォールディングがアテローム性動脈硬化症に関わっているのではないかと言われているので、疾病治療への応用が期待される。	
706	Putative Glur0	ligand binding core (with L-glutamate)	1US4	released	2003. 11. 19	周辺質の基質結合タンパク質(イニシアル受容体)や膜透過酵素(バミアーゼ、担体タンパク質)を構成する様々な基質を輸送するバクテリアの周辺質の輸送システムは、基質を周辺質から細胞質へと移動させる。closed-cleftを用いた高度好熱菌の周辺質のL-glutamate or/and L-glutamine-bindingリガンド結合型の構造を、MAD法により1.5Åの分解能で決定した。本タンパク質は、大きな間隙と逆平行の $\beta$ 鎖のトランスドメインのペアで出来ているfloorによって分けられる二つのドメインから成る。Glutamate(グルタミン酸)は、二つのドメインと両方の両ドメインへの密着部位の間に行けるポケットに結合する(埋まる)ことが明らかとなった。また、膜透過酵素の結合部位についても同定した。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
707	putative Glur0 ligand binding core		IUS5	released	2003. 11. 19	周辺質の基質結合タンパク質(イニシアル受容体)や膜透過酵素(パーミターゼ、担体タンパク質)を構成する様々な基質を輸送するバクテリアの周辺質の輸送システムは、基質を周辺質から細胞質へと移動させる。closed-cleft型をしている高度好熱菌の周辺質のL-glutamate or/and L-glutamine-bindingリガンド結合型の構造を、MAD法により1.5Åの分解能で決定した。本タンパク質は、大きな間隙と逆平行のβ鎖のトランスドメインのベアで出来ているfloorによって分けられる二つのドメインから成る。Glutamate(グルタミン酸)は、二つのドメインと両方の両ドメインへの密着部位の間にできるポケットに結合する(埋まる)ことが明らかとなった。また、膜透過酵素の結合部位についても同定した。	
708	Putative styrene monooxygenase small component		IUSC	released	2003. 11. 27	Styrene monooxygenaseは、styreneから(S)-styrene oxideへの酸化反応を触媒する。フラビンモノヌクレオチド(FMN)と結合するモノオキシゲナーゼであるTT0318について、MIR法により構造を解析し、1.5Åの分解能で詳細を決定した。FMN+NADP結合型については、1.3Åで構造を決定した。高度好熱菌の酵素のフォールディングは、Archaeoglobus fulgidusのフェリ(三価鉄)還元酵素のフォールディングに類似していることがわかった。	
709	Putative styrene monooxygenase small component (with bound NADP+)		IUSF	released	2003. 11. 25	Styrene monooxygenaseは、styreneから(S)-styrene oxideへの酸化反応を触媒する。フラビンモノヌクレオチド(FMN)と結合するモノオキシゲナーゼであるTT0318について、MIR法により構造を解析し、1.5Åの分解能で詳細を決定した。FMN+NADP結合型については、1.3Åで構造を決定した。高度好熱菌の酵素のフォールディングは、Archaeoglobus fulgidusのフェリ(三価鉄)還元酵素のフォールディングに類似していることがわかった。	
710	Transcriptional coactivator DcoH (Pro9Leu mutant)		IUSM	released	2003. 11. 27	二機能性のタンパク質protein pterin-4α-carbinolamine dehydratase (PCD)/dimerization cofactor of HNF1 (DCoH)は、特異的なDNA結合タンパク質(HNF1など)に結合することによって遺伝子発現の刺激に関与している細胞質内のタンパク質である。タンパク質はまた、フェニルアラニンヒドロキシラーゼのビオプテリン・コファクターの脱水を触媒する。N末端が切断されている類似のタンパク質はまた、Ttにおいて同定されている。Tt PCD/DCoHの構造は、MRIによって解析され、1.3Åで精製された。単ドメインモノマーは、アンチパラレルなβ-シートの4つのストランドのone sideに逆らって包まれている2つのα-ヘリックスから成る。either endで2つの突出したループを持つeight-strandedのβ-シートの疎水性表面(凹面)は、TATA-box結合タンパク質に見られる鞍部のような形を暗示させる。ベースの結晶構造は、DCoHがそれとDNA周辺のwrappingに相互作用によって配列の特異的な転写因子のDNA結合親和性を増強するかもしれないことを提唱する。	
711	transcriptional coactivator DcoH (Pro9Leu mutant)		IUSO	released	2004. 12. 18	二機能性のタンパク質protein pterin-4α-carbinolamine dehydratase (PCD)/dimerization cofactor of HNF1 (DCoH)は、特異的なDNA結合タンパク質(HNF1など)に結合することによって遺伝子発現の刺激に関与している細胞質内のタンパク質である。タンパク質はまた、フェニルアラニンヒドロキシラーゼのビオプテリン・コファクターの脱水を触媒する。N末端が切断されている類似のタンパク質はまた、Ttにおいて同定されている。Tt PCD/DCoHの構造は、MRIによって解析され、1.3Åで精製された。単ドメインモノマーは、アンチパラレルなβ-シートの4つのストランドのone sideに逆らって包まれている2つのα-ヘリックスから成る。either endで2つの突出したループを持つeight-strandedのβ-シートの疎水性表面(凹面)は、TATA-box結合タンパク質に見られる鞍部のような形を暗示させる。ベースの結晶構造は、DCoHがそれとDNA周辺のwrappingに相互作用によって配列の特異的な転写因子のDNA結合親和性を増強するかもしれないことを提唱する。	
712	MOEA protein		IUZ5	released	2004. 3. 10	モリブデン補助因子であるMocoの多段階合成を明らかにするために、E. coliの5つのオペロン(mod, moa, mob, mog, moe)を用いた。MogAは、Moco合成におけるmolybdopterin (MPT)へのMo原子挿入に必要なmolybdochelataaseと報告されている。MoeAは、MPTへのMo挿入、活性化thiomolybdate(チオモリブデン酸)化合物の形成、Moco合成時に起こる足場形成に必要なと示唆されている。E. coliのMoeAの結晶構造はすでに解析されており、MoeAとMogAの構造学的類似性から、Moco合成の最終段階において相互作用すると考えられている。全体のフォールドはダイマーで、おのおののモノマーは伸展したL型の分子で、4つのドメインに分けられる。それら4つのドメイン全てがダイマー形成に寄与しており、二つのモノマーは、大きく接着している。	
713	l-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase		IUZB	released	2004. 3. 11	NAD依存性のアルデヒドヒドロゲナーゼは、アルデヒドの広範囲にわたる不可逆的な酸化反応を触媒する。ファミリータンパク質であり、P5Cのプロリンあるいはオルニチンからグルタミンへの変換を触媒する、高度好熱菌のTt Δ1-pyrroline-5-carboxylate (P5C) dehydrogenaseの構造を、MR法により解析し、1.4Åで詳細を決定した。Tt P5C分子は、NAD結合ドメイン、基質結合ドメイン、ダイミラーゼーションドメインの3つのドメインをフォールドしたサブユニットからなるヘテロダイマーである。NAD結合型、基質結合型のP5Cについて、現在、構造解析を行っているところである。	
714	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼ2-keto-3-deoxygluconate kinase		1V19	released	2004. 4. 14	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼの基本的な酵素反応は、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸という基質をATPとマグネシウムイオンの存在下でリン酸化するというものである。我々は、高度好熱菌HB8由来のKDCKの構造研究を始めたが、リガンドが結合していないTtKDCKから得られた回折データは、この結晶が双晶率24.4%の半面双晶である事が分かった。分子置換のサーチモデル作成には大腸菌リボキナーゼの座標が使用された。空間群P6322中に正解が発見され、結晶の真対称はP63であった。サーチモデルは密度変化法によって再構築された後、改版DMで平均化され、CNSを用いて分解能2.3ÅでR=15.3%、Rfree=19.8%まで改良した。AMP-PNPと結合した2者複合体TtKDCKと、AMP-PNP、2-デヒドロ-3-デオキシ-D-グルコン酸、マグネシウムイオンと結合した四者複合体TtKDCKの結晶も得られたので、その構造も解明、改良された。最初となるこの結晶研究はKDCKの基質及び補助因子認識モードを初めて明らかにした。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
715	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼ2-keto-3-deoxygluconate kinase (bound 2-keto-3-deoxygluconate and ADP)		1V1A	released	2004.4.14	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼの基本的な酵素反応は、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸という基質をATPとマグネシウムイオンの存在下でリン酸化するというものである。我々は、高度好熱菌HB8由来のKDGGの構造研究を始めたが、リガンドが結合していないTtKDGGから得られた回折データは、この結晶が双晶率24.4%の半面双晶である事が分かった。分子置換のサーチモデル作成には大腸菌リボキナーゼの座標が使用された。空間群P6322中に正解が発見され、結晶の真対称はP63であった。サーチモデルは密度改変法によって再構築された後、改変版DMで平均化され、CNSを用いて分解能2.3 ÅでR=15.3%、Rfree=19.8%まで改良した。AMP-PNPと結合した2者複合体TtKDGGと、AMP-PNP、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸、マグネシウムイオンと結合した四者複合体TtKDGGの結晶も得られたので、その構造も解明、改良された。最初となるこの結晶研究はKDGGの基質及び補助因子認識モードを初めて明らかにした。	
716	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼ2-keto-3-deoxygluconate kinase (bound ATP)		1V1B	released	2004.4.14	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼの基本的な酵素反応は、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸という基質をATPとマグネシウムイオンの存在下でリン酸化するというものである。我々は、高度好熱菌HB8由来のKDGGの構造研究を始めたが、リガンドが結合していないTtKDGGから得られた回折データは、この結晶が双晶率24.4%の半面双晶である事が分かった。分子置換のサーチモデル作成には大腸菌リボキナーゼの座標が使用された。空間群P6322中に正解が発見され、結晶の真対称はP63であった。サーチモデルは密度改変法によって再構築された後、改変版DMで平均化され、CNSを用いて分解能2.3 ÅでR=15.3%、Rfree=19.8%まで改良した。AMP-PNPと結合した2者複合体TtKDGGと、AMP-PNP、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸、マグネシウムイオンと結合した四者複合体TtKDGGの結晶も得られたので、その構造も解明、改良された。最初となるこの結晶研究はKDGGの基質及び補助因子認識モードを初めて明らかにした。	
717	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼ2-keto-3-deoxygluconate kinase (bound ATP)		1V1S	released	2004.4.26	2-ケト3-デオキシグルコン酸キナーゼの基本的な酵素反応は、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸という基質をATPとマグネシウムイオンの存在下でリン酸化するというものである。我々は、高度好熱菌HB8由来のKDGGの構造研究を始めたが、リガンドが結合していないTtKDGGから得られた回折データは、この結晶が双晶率24.4%の半面双晶である事が分かった。分子置換のサーチモデル作成には大腸菌リボキナーゼの座標が使用された。空間群P6322中に正解が発見され、結晶の真対称はP63であった。サーチモデルは密度改変法によって再構築された後、改変版DMで平均化され、CNSを用いて分解能2.3 ÅでR=15.3%、Rfree=19.8%まで改良した。AMP-PNPと結合した2者複合体TtKDGGと、AMP-PNP、2-デヒドロ3-デオキシ-D-グルコン酸、マグネシウムイオンと結合した四者複合体TtKDGGの結晶も得られたので、その構造も解明、改良された。最初となるこの結晶研究はKDGGの基質及び補助因子認識モードを初めて明らかにした。	
718	medium chain fatty acid-CoA ligase		1V25	released	2004.7.27	脂質分解の最初の酵素の基質との構造解析によりその2段階反応の酵素メカニズムを解明した。	
719	medium chain fatty acid-CoA ligase		1V26	released	2004.7.27	脂質分解の最初の酵素の1段階目の反応生成物であり、2段階目の基質となる精製中間体の複合体構造解析によりその2段階反応の酵素メカニズムを解明した。	
720	PsbP protein		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Psb0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。	
721	hypothetical aminotransferase (HAT)		1V2D	released	2004.6.6	HATのネイティブ型、チロシン誘導体およびメチオニン誘導体との複合体の立体構造を決定した。さらに機能解析よりHATはグルタミンと芳香族アミノ酸、メチオニンなどとの間でアミノ基転移反応を触媒する酵素であることが明らかになった。HATは同一サブユニット2つからなるビタミンB6依存型の2量体酵素である。サブユニットは大小2つのドメインからなり、活性部位はドメイン間かつサブユニット間のインターフェースに存在する。活性部位の底にはビタミンB6が補酵素として結合している。その立体構造はHB8のアスパラギン酸アミノ基転移酵素(AspAT)に極めてよく似ているので、HATはタイプIサブクラスIに分類されることがわかった。ところがHATの活性部位を構成するアミノ酸には疎水性のものが多く、活性部位の性質はAspATとは相当に異なっている。HATの特徴は基質が結合すると小ドメインが大きく回転して、反応物を酵素内部に閉じ込めることで、触媒反応が可能になっていることである。ライフサイエンスの発展にともなって、アミノ酸は医薬品の原料として今まで以上に利用されることが予想される。ビタミンB6依存型酵素には4つの構造タイプがあるが、HATはタイプIに属する。タイプIには類似の構造を持つが、反応特異性の異なる多くのビタミンB6酵素が存在する。これらの酵素の特徴は様々なアミノ酸類を誘導体へと変換する能力をもっていることである。進化的に見ればこれらのタイプIのビタミンB6依存型酵素は同じ祖先から出発して、多様な反応を触媒する酵素群へと進化してきたものである。したがってHATも立体構造の知見に基づき合理的設計あるいは進化工学的手法によって、アミノ酸類を有用な医薬品原料へと変換する酵素へと改良することにより、人工生体触媒として開発してゆくことが可能である。さらにHB8由来のHATは耐熱性を有し、工業的な使用にとって有利な性質を持っている。	
722	glutamine aminotransferase (HAT) (complex with A-keto-G-methylthiobutyrate)		1V2E	released	2004.7.6	HATのネイティブ型、チロシン誘導体およびメチオニン誘導体との複合体の立体構造を決定した。さらに機能解析よりHATはグルタミンと芳香族アミノ酸、メチオニンなどとの間でアミノ基転移反応を触媒する酵素であることが明らかになった。HATは同一サブユニット2つからなるビタミンB6依存型の2量体酵素である。サブユニットは大小2つのドメインからなり、活性部位はドメイン間かつサブユニット間のインターフェースに存在する。活性部位の底にはビタミンB6が補酵素として結合している。その立体構造はHB8のアスパラギン酸アミノ基転移酵素(AspAT)に極めてよく似ているので、HATはタイプIサブクラスIに分類されることがわかった。ところがHATの活性部位を構成するアミノ酸には疎水性のものが多く、活性部位の性質はAspATとは相当に異なっている。HATの特徴は基質が結合すると小ドメインが大きく回転して、反応物を酵素内部に閉じ込めることで、触媒反応が可能になっていることである。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
723	glutamine aminotransferase (HAT) (complex with 3-phenylpropionate)		1V2F	released	2004. 7. 6	HATのネイティブ型。チロシン誘導体およびメチオニン誘導体との複合体の立体構造を決定した。さらに機能解析よりHATはグルタミンと芳香族アミノ酸、メチオニンなどとの間でアミノ基転移反応を触媒する酵素であることが明らかになった。HATは同一サブユニット2つからなるビタミンB6依存型の2量体酵素である。サブユニットは大小2つのドメインからなり、活性部位はドメイン間かつサブユニット間のインターフェースに存在する。活性部位の底にはビタミンB6が補酵素として結合している。その立体構造はHB8のアスパラギン酸アミノ基転移酵素(AspAT)に極めてよく似ているので、HATはタイプIサブクラスIに分類されることがわかった。ところがHATの活性部位を構成するアミノ酸には疎水性のものが多く、活性部位の性質はAspATとは相当に異なっている。HATの特徴は基質が結合すると小ドメインが大きく回転して、反応物を酵素内部に閉じ込めることで、触媒反応が可能になっていることである。	
724	TrmH		1V2X	released	2004. 5. 4	tRNA(Gm18)メチル基転移酵素(SpoU)は、tRNAのDループ上の18位のグアノシンのリボースの2'OHをメチル化する。この修飾は真核生物・原核生物を通じ広汎に見られ、RNAの機能構造の維持とリガンドとの相互作用を保証していると考えられる。高度好熱菌由来SpoUと補酵素S-アデノシルメチオニンの複合体の結晶構造を1.85Å分解能で決定した結果、触媒ドメインには深い三葉巻結び目構造があり、変異体解析の結果、触媒部位および補酵素結合部位の構築に重要な意味を持つ。tRNAのジハイドロウリジンシステムは、片方のサブユニットのN末端およびC末端にあるαヘリックスに挟まれて認識され、もう一方のサブユニットではG18がメチル化されることで、tRNAのジハイドロウリジンアームがSpoU二量体にドッキングする。	
725	KaiA		1V2Z	released	2004. 6. 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。	
726	DNA primase (UTP complex)		1V34	released	2004. 3. 23	DNAプライマーゼは、一本鎖DNA依存性RNAポリメラーゼの1種で、DNA複製の際、DNAポリメラーゼが複製を開始するための、短いRNAプライマーを一本鎖DNAを鋳型として作る酵素である。今回、真核型DNAプライマーゼとUTPとの複合体の構造解析を行ったところ、ヌクレオチド転移反応に重要と言われているAsp95, Asp97, Asp280を含むアクティブサイトにUTPが結合していることがわかった。	
727	phosphoglycerate mutase		1V37	released	2004. 12. 14	補因子依存性ホスホグリセレートムターゼ(dPGM)は解糖系および糖新生に関連する3つの反応を触媒する多機能酵素である。今回我々はThermus thermophilus HB8由来dPGMの結晶構造を、SIR法により1.4Å分解能で決定した。本酵素はα/βフォルドを持つ単量体構造をとっており、既に報告されている様々な生物種由来酵素の結晶構造と類似していた。しかし、本酵素はその会合状態について不明な点があり、単量体・二量体・四量体の報告がある。我々は現在、結晶構造の比較検討により会合状態と機能の関係を探っている。	
728	nitrogen regulatory protein P-II (GlnB) (T-loopなし)		1V3R	released	2004. 11. 23	P-IIは、窒素代謝を制御する酵素群の一つで、グルタミン合成酵素の活性を調節するタンパク質である。高度好熱菌由来シグナル伝達タンパク質GlnK/GlnBは、リボソームタンパク質L31と相互作用していることが示唆されている。得られた構造は、結晶中でも3量体であり、分析超遠心による溶液中の測定結果と一致した。	
729	nitrogen regulatory protein P-II (GlnB) (T-loopなし)+ATP		1V3S	released	2004. 11. 23	P-IIは、窒素代謝を制御する酵素群の一つで、グルタミン合成酵素の活性を調節するタンパク質である。高度好熱菌由来シグナル伝達タンパク質GlnK/GlnBは、リボソームタンパク質L31と相互作用していることが示唆されている。ATP結合型のGlnK/GlnBについて構造決定を行った。ATPの結合によって引き起こされる構造変化についての知見を得た。	
730	leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase/15-oxo-prostaglandin 13-reductase		1V3T	released	2004. 7. 13	炎症、免疫系の中心的調整物質であるアラキドン酸カスケードの生成物の分解経路のキー酵素であり、最もよく使われている一部の抗炎症阻害剤で阻害される。構造解析の結果、シグナル伝達系によって制御を受けていることが強く示唆された。	
731	leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase/15-oxo-prostaglandin 13-reductase		1V3U	released	2004. 7. 13	炎症、免疫系の中心的調整物質であるアラキドン酸カスケードの生成物の分解経路のキー酵素であり、最もよく使われている一部の抗炎症阻害剤で阻害される。構造解析の結果、シグナル伝達系によって制御を受けていることが強く示唆された。こちらは補酵素との複合体解析である。	
732	leukotriene B4 12-hydroxydehydrogenase/15-oxo-prostaglandin 13-reductase (complexed with NADP and 15-oxo-PGE2)		1V3V	released	2004. 7. 13	ロイコトリエンB4 (LTB4)は、炎症反応において白血球や好酸球などを活性化する走化性因子である。白血球以外の組織で、LTB4の不活性化経路の初発酵素としてロイコトリエンB4 12-水酸化酵素が同定され、LTB4の12位の水酸基の酸化反応を触媒する。さらに、本酵素は15-ケトプロスタグランジンE2や15-ケトリボキシゲンA4の13位の二重結合の還元反応を触媒することにより、これらを不活性化することが最近明らかになった。つまり本酵素は脂質メディエーターの不活性化において、異なる部位の酸化と還元を担う多機能酵素として働いている。この分子機構を理解するために、本酵素の構造学的研究を行っている。自動結晶化ロボットTERAで結晶化に成功してSpring-8理研構造ゲノムビームライン (BL26)でのMAD測定により、本酵素のアポ体、NADP+複合体、NADP+および15-ケトプロスタグランジンE2との複合体、NADP+およびインドメタシンとの複合体の結晶構造を明らかにした。NADP+および15-ケトプロスタグランジンE2との複合体では、NADP+の2'水酸基と結合水が15ケト基の酸素原子と水素結合を形成していた。この結果、15-ケトプロスタグランジンE2のエノール型が安定化されて13位炭素原子が求電子的になり、NADP+のニコチンアミド環のC3位炭素から水素がヒドリド転移されることにより、還元反応が触媒されることを提唱した。さらに、サブユニット間のプロリンリッチ領域は左巻きポリプロリンリッチヘリックス構造をしており、SH3ドメインを含むタンパク質が結合することが示唆される。この結合により基質認識部位の構造が変化しうるので、生体内でSH3ドメインを含むタンパク質により本酵素が活性制御を受けている可能性を提唱した。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
733	ferrityochelin binding protein (Carbonic anhydrase)		1V3W	released	2003. 11. 18	脱炭酸酵素 (CAs) は、組織毛細管tissue capillariesにCO2の拡散を促進している亜鉛を含有する金属結合酵素である。それは、CO2とHCO3-の間で可逆反応に触媒作用を及ぼす。この反応は、呼吸性ガス交換、光合成、生合成過程、pHホメオスタシスやイオン輸送において重要である。Ph CAのnativeやcomplex型の構造は、MRで測定した。ポリペプチド鎖フォールドはβ-ヘリックスがあり、また、活性部位穴の最も重要な特徴は3つのヒスチジン残基とa tetrahedral fashionの水で複合体化された亜鉛イオンである。炭酸水素塩アニオンは、native enzymeでH2O/OH-を置換している四面体サイトで亜鉛イオンに結合する。Ph CAにリガンドが結合した構造は、炭酸水素塩では活性サイトの亜鉛イオンに直接その酸素が強調することによって安定することを示した。現在の構造は、Phの酵素のoverall foldと触媒機能がγクラスの脱炭酸酵素と類似していることを示した。	
734	polypeptide deformylase		1V3Y	released	2004. 12. 28	新たに合成された蛋白質のN末端フォルミル基を除去する金属プロテアーゼであり、原核生物の生存に必須であるが、ヒトを含む真核生物には不要であるため、抗菌剤・抗生物質の対象となる。カルボキシル基末端に突出したヘリックス構造を有し、活性部位は長く曲がったβストランドと短い逆平行βシートで覆われている。基質が結合すると思われる溝があり、その底に保存された配列モチーフを含むαヘリックスがある。	
735	sulfate adenylyltransferase (ATP sulfurylase )		1V47	released	2004. 4. 6	ATPスルフリラーゼ (ATPS) は、ATPのアデニル基を無機硫酸へ転移し、アデノシン5'-ホスホ硫酸 (APS) を生成する反応 (またはその逆反応) を触媒する酵素である。ATPSは生物界に普遍的に分布するが、その生理的役割は代謝により異なる。多くの場合、ATPSは硫酸基を活性化し、有機物中へ導入する一連の酵素群の最初に位置する。すなわち、上記のような反応でできたAPSがAPSキナーゼによって3'-ホスホアデノシン5'-ホスホ硫酸 (PAPS) を生じる。PAPSは、スルフトランスフェラーゼのような酵素の働きにより、硫酸基を様々な化合物に供与する。また、PAPSはインスリンなどの生合成にも使われる。これまでに酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )、カビ ( <i>Penicillium chrysogenum</i> ) および細菌 ( <i>Riftia pachyptila</i> ) のATPSの構造が決定されている。酵母およびカビのATPSは6量体であり、各サブユニットは4つのドメインからなる。これらに対し、細菌ATPSは2量体で、そのサブユニットは3つのドメインからなる。Thermus thermophilus HB8のゲノム解析から、ATPSをコードしていると考えられるORFが見つかった。このアミノ酸配列は上記のATPSと30-35%の相同性がある。本研究では、このタンパク質 (TtATPS) の発現、精製を行い、これが確かにATPS活性を有することを示した。さらにそのAPSとの複合体の結晶を調製し、結晶構造を決定した。本タンパク質を大腸菌で大量発現させ、クロマトグラフィーで精製した。5 mM APS存在下で、蒸気拡散法で結晶化した。	
736	AUH (AU-binding protein/enoyl-CoA hydratase)with RNA		1V4M	on_hold		この構造は、mRNAの3'側非翻訳領域のシグナル配列AU-rich elementに選択的に結合するRNA結合タンパク質・AUHと、標的配列を模した97 merという長いRNA (AUUU)24Aを混合して結晶化したものである。この結果、RNAの電子密度を見出すことができなかったものの、AUHタンパク質側に驚くべき構造変化を見出すことができた。AUHに見られるような、タンパク質の側に大きな構造変化を伴う動的なRNA結合様式は、他のRNA結合タンパク質には見出されることがなく、まったく新規である。この研究によって、タンパク質・RNA相互作用に関して新たな興味深い知見を見出すことができた。AUHは6つのサブユニットが会合して6量体を形成している。RNAが存在しない条件下や短いRNAの存在下では、AUHは対称性の高いグロブユラーな6量体を形成していた (symmetric hexamer)。一方、(AUUU)24A存在下ではAUHの6量体は、対称性の崩れた新たな会合状態を取っており (asymmetric hexamer)、6量体片方に大きなクレフトを形成していた。このような会合状態は、AUHの属する酵素ファミリー enoyl-CoA hydratase/isomerase superfamilyの他のメンバーにも見出されておらず、新規な会合状態である。AUHは神経系の発生の遅延を伴う遺伝病3-methylglutaconic aciduria type-1の原因遺伝子であることから、この構造変化と酵素活性との関連を調べることは、遺伝病3-methylglutaconic aciduria type-1の治療につながりうる。	
737	AUH (AU-binding protein/enoyl-CoA hydratase)		1V40	on_hold		AUHは3-hydroxyl-3-methylglutaryl-CoAの脱水反応を触媒する酵素であり、さまざまなCoA誘導体を基質とする多様な酵素群 enoyl-CoA hydratase/isomerase superfamilyに属している。AUHの構造解析は、この酵素活性の構造生物学的基盤を与える。また一方で、AUHはmRNAの3'側非翻訳領域のシグナル配列AU-rich elementに選択的に結合するRNA結合タンパク質でもあり、非常に興味深い2機能タンパク質である。enoyl-CoA hydratase/isomerase superfamilyの他のメンバーにはRNA結合能が報告されていないことから、AUHのRNA結合機構を明らかにすることによって、タンパク質によるRNA結合能に関する新たな知見を得ることができると期待される。先の研究によって、RNA結合能を失うが、酵素活性はまったく損なわれないAUHの変異体をすでに得ている。逆に、構造をもとにして酵素活性を失うがRNA結合能を損なわない変異体を作ることもできるだろう。これらの変異体を用いてAUHの生物学的な機能を明らかにすることができるだろう。構造解析としては、すでに先の研究によってAUHと6 merのAUUAG RNAを混合して結晶構造解析を行い、電子密度中にRNAを見出すことができなかったものの、AUHの構造を決定することには成功していた。今回得られた構造は、RNAをまったく含まない試料について結晶構造解析を行ったもので、構造は先の研究成果とほとんど同じであった。構造学的新鮮さはないものの、6 merのRNAがAUHの構造にほとんど変化を及ぼさないという知見を得ることができた。AUHは神経系の発生の遅延を伴う遺伝病3-methylglutaconic aciduria type-1の原因遺伝子なので、AUHの構造をもとにして機能研究を行うことはこの遺伝病の治療に直結する。	
738	Alanyl-tRNA synthetase		1V4P	released	2004. 11. 23	アラニン tRNA 合成酵素は、トランスファー-RNA Aalaと、それに対応するアミノ酸であるアラニンとをATPのエネルギーを利用して結合させる酵素である。今回我々は、Pyrococcus horikoshii OT3 由来の、アラニン tRNA 合成酵素と推定されるタンパク質 PH0574 について、多波長異常分散法を用いて1.45 Åの分解能で構造決定を行った。この酵素は、一般的なアミノアシル tRNA 合成酵素と比較するとかなり小さいことが、アミノ酸の一次配列から分かっている。その結果 PH0574 は、これまでに報告されている大腸菌スレオニン tRNA 合成酵素の校正機能を司る N1 ドメインとの構造相同性を持つことが分かった。このことは、合成に失敗したアミノアシル tRNA の校正 (editing) を触媒していることを示している。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
739	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase		1V4V	released	2003.12.2	UDP-N-acetylglucosamine 2-epimeraseは、UDP-N-acetylglucosamineのC2位での可逆的エピマー化を触媒し、それによりUDP-N-acetylmannosamine (UDP-ManNAc)、ManNAcの活性ドナーを供給する。ManNAcは、肺炎球菌タイプ19Fや19Aのような病原菌の抗食作用性莢膜多糖類形成などの、細菌におけるいくつかのプロセスに重要なタンパク質である。高度好熱菌由来UDP-C1cNAc 2-epimeraseのセレノメチオニン置換体の構造を分子置換法で測定し、1.8 Åで精密化した。非対称ユニットはβ α βドメインからなる単量体からなる二量体を含む。	
740	cytoglobin (ferric form)		1V5H	released	2004.6.8	ほ乳類における第4のグロビンタンパク質の解析により、その酸素結合メカニズムを解明するために不可欠なferric formの立体構造を決定した。生物にとって不可欠である酸素の運搬や貯蔵を担うタンパク質の立体構造と酸素親和性の関係を明らかにした。	
741	aminomethyl transferase, glycine cleavage system T-protein		1V5V	released	2004.10.26	グリシン代謝の主要経路であるglycine cleavage system (GCS)は4つの蛋白質(P, H, T, L)から成る酵素複合体である。このうちT蛋白質はメチルアミン化されたH蛋白質からT蛋白質のテトラヒドロ葉酸補因子へのメチレン炭素転移を触媒するが、その反応機構の詳細はよく分かっていない。今回我々はPyrococcus horikoshii OT3由来GCSコンポーネントT蛋白質の結晶構造を、SAD法により1.5Å分解能で決定した。本蛋白質は4つのドメインから成る新規構造をとっていた。現在、その構造機能相関を明らかにするため補因子との複合体結晶の調製を試みている。	
742	Dmc1 protein		1V5W	released	2004.5.18	ヒト減数分裂時のDNA組換え反応で中心的な役割を成すDmc1タンパク質の立体構造である。Dmc1(減数分裂期特異的に発現し、相同DNA組換えの要である相同的対合反応を触媒する。)を野生型の状態で発現させて、結晶構造解析を行い、その立体構造を解明した。その構造から、ヒトDmc1は、8量体のリング構造が2個重なった16量体からなる巨大なダブルリング構造を形成することがわかった。この構造には、直径30オングストロームの穴が開いており、その穴の周辺には、DNAとの結合に関与すると思われる塩基性、芳香族性のアミノ酸が多数存在することがわかった。従って、Dmc1はDNA組換え反応を行う際に、2本鎖DNAをリング構造の中心にある穴の中に取り込んで行うというダイナミックなメカニズムで反応させていることが解明された。Dmc1は、減数分裂において中心的な役割を成すタンパク質であり、その立体構造を解明することにより、減数分裂時のDNA組換え反応の核心のメカニズムを解明することが出来る。現在までのところ、植物の品種改良や染色体上での遺伝子治療の技術でネックになっているところは、このDNA組換え反応の非効率化である。今回解明された立体構造から、DNA組換え反応の効率を飛躍的に上昇させる変異体Dmc1をデザインすることが出来る。このようにして、開発された変異体Dmc1を植物の品種改良、ヒトの遺伝子治療、不妊治療等に応用することが出来れば、バイオテクノロジー、医療に与える影響は計り知れない。	
743	phosphoglycerate kinase		1V5X	released	2003.12.23	ホスホリボシルアントラニレートイソメラーゼ (PRAI) はトリプトファン合成系の4番目の反応を触媒する酵素で、これによりN-(5'-ホスホリボシル)-アントラニレート (PRA) がL-(o-カルボキシフェニルアミノ)-L-デオキシリブrose-5-ホスフェート (GDRP) に異性化される。Thermotoga maritima 由来のPRAI (tPRAI) はpH 3.2でプロテアーゼに対して95℃まで強い安定性を示しており、また2.0Å分解能での結晶構造は2つの (ba) 8-βバレル蛋白質が強い疎水性相互作用により2量体を形成していることを示した。今回、我々はThermus thermophilus 由来のPRAI (TthPRAI) の2.0Å分解能での結晶構造をtPRAIを初期モデルとした分子置換法により決定した。非対称単位中に2個の蛋白質分子と301個の水分子を含んでおり、tPRAIと同様の2量体を形成していることがわかった。	
744	ferrityochelin binding protein (Carbonic anhydrase)		1V67	released	2003.12.9	脱炭酸酵素 (CAs) は、組織毛細管tissue capillariesにCO2の拡散を促進している亜鉛を含有する金属結合酵素である。それは、CO2とHCO3-の間で可逆反応に触媒作用を及ぼす。この反応は、呼吸性ガス交換、光合成、生合成過程、pHホメオスタシスやイオン輸送において重要である。Ph CAのnativeやcomplex型の構造は、MRで測定した。ポリペプチド鎖フォールドはβ-ヘリックスがあり、また、活性部位穴の最も重要な特徴は3つのヒスチジン残基とa tetrahedral fashionの水で複合体化された亜鉛イオンである。炭酸水素塩アニオンは、native enzymeでH2O/OH-を置換している四面体サイトで亜鉛イオンに結合する。Ph CAにリガンドが結合した構造は、炭酸水素塩では活性サイトの亜鉛イオンに直接その酸素が強調することによって安定することを示した。現在の構造は、Phの酵素のoverall foldと触媒機能がγクラスの脱炭酸酵素と類似していることを示した。	
745	Divalent cation tolerance protein CutA1		1V6H	released	2003.12.23	細胞の銅耐性に関わっていると考えられる幾つかの遺伝子の座位がこれまで見つかったが、そのうち真正細菌と古細菌に見られるCut A座位は銅以外にも多様な二価陽イオンに対する細胞の耐性に関与しているものと思われる。Thermotoga maritima 由来Cut Aの構造が最近PDBに発表されたが (PDB ID 1KR4)、我々はここにその座標 (同一性40%) をモデルとして分子置換法を用いて解析した。高度好熱菌HB8由来の二価陽イオン耐性タンパク質 (Cut A) の結晶構造を発表する。このタンパク質の非対称ユニットは分子1つで構成されており、解析された結晶の電子密度図は、NaとClのイオン、アセテートイオン (C2 H4 O2)、それにトリスヒドロキシメチル-メチルアンモニウムイオン (C4 H12 N1 O3) 分子と言われる余分な電子密度分布を含んでいた。	
746	phosphoglycerate kinase		1V6S	released	2003.12.23	解糖系の酵素であるホスホグリセレートキナーゼ (PGK) は、ADPと1,3-bis-phosphoglycerateからATPと3-phosphoglycerateを生産する反応を触媒する。今回我々はThermus thermophilus HB8由来PGKの結晶構造を、MR法により1.5Å分解能で決定した。本酵素は既に報告されている様々な生物種由来酵素に類似し、2つのα/βドメインを持つ単量体構造をとっていた。	
747	lactam utilization protein		1V6T	released	2004.12.14	コウジカビAspergillus nidulansで同定されたlam遺伝子群は2-pyrrolidinoneなどのラクタム化合物を栄養源として利用するために必要であることが知られている。LamB蛋白質はlam遺伝子群のコードする2つの蛋白質のうちの一つであり、その機能はラクタマーゼまたはパーミアラーゼではないかと推測されているがよく分かっていない。今回我々はPyrococcus horikoshii OT3由来LamBの結晶構造を、MAD法により1.7Å分解能で決定した。本蛋白質は7回繰り返し単位から成る新規α/βバレルフォールドを持つサブユニットが4つ会合した四量体構造をとっていた。その構造からラクタマーゼ活性が予想されるため、現在活性測定を検討中である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
748	methyltransferase		1V6Z	released	2004.12.14	C末ドメインはメチルトランスフェラーゼと構造類似性がある。N末ドメインとC末ドメインとがフレキシブルなリンカーで結合し、ダイマー構造をとり、Knot構造を持っている。メチルトランスフェラーゼとの相溶性より、AdoMet、AdoHcyの結合を予想し、複合体としての解析を試みた結果、結合部位にリガンドの結合を確認できた。	
749	probable antibiotics synthesis protein		1V70	released	2004.12.14	今回我々は細菌および古細菌で弱く保存されている機能未知蛋白質であるThermus thermophilus HB8由来TT1209蛋白質の結晶構造を、SAD法により1.3Å分解能で決定した。本蛋白質はβ構造の新規フォールディングを持つサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた。その構造からマンノース6-リン酸イソメラーゼ活性が予想されるため、現在活性測定を検討中である。もし本蛋白質が酵素であれば新しいタイプの抗菌剤の開発につながる可能性がある。	
750	Threonine synthase (complexed with a substrate analogue)		1V7C	released	2003.12.30	本酵素は、トレオニン生合成系の最終ステップを触媒するfold type IIのPLP酵素である。本酵素は2量体構造を持ち、3つのドメイン(大、小、スワップドメイン)から構成されている。基質アナログとの複合体の構造解析から、基質結合に伴って小ドメインが活性部位を覆うように移動することが分かった。	
751	nucleotide triphosphate pyrophosphatase		1V7R	released	2003.12.30	XTP/I T Pピロホスファターゼは、XTPまたはI T Pなどの特殊なヌクレオシドトリリン酸をヌクレオシドモノリン酸に分解する反応を触媒し、変異原性のあるこれらのヌクレオチドがDNAに取り込まれるのを防いだり、G蛋白質によるシグナル伝達を調節したりする役割があるとされている。今回我々はPyrococcus horikoshii OT3由来XTP/I T Pピロホスファターゼの結晶構造を、MR法により1.4Å分解能で決定した。本酵素のフォールディングおよび会合状態は、結晶構造が報告されているMethanococcus jannaschii由来酵素のものに類似しており、α/βフォールドのサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた(アミノ酸配列同一残基率50%)。我々は基質アナログとの共結晶の構造も2.3Å分解能で解いたため、これまで不明であったリガンド結合による構造変化の議論が可能になった。	
752	hydroxyethylthiazole kinase protein		1V8A	released	2004.1.13	チアミンピロリン酸は、生合成においてacyl carbanion intermeateの安定化に関与している補因子で、糖代謝においてキー的な役割を果たす。この酵素は、チアミン生合成経路でのサルベージ酵素であり、細胞が1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate、システイン、チロシンからその合成の代替物としてリサイクルしたhydroxyethylthiazole (ThiK)を使用することを可能にする。the centered cubic crystal form of Ph ThiKの構造は、サーチモデルとしてBacillus subtilis由来の4-Methyl-5-b-hydroxyethylthiazole kinaseの構造とMR法を用いて1.85Åで決定した。Tt ThiKは、非対称のユニットの中の1つのサブユニットを持つ三量体である。その構造は、ヘリックスによって隣接したa large nine-stranded central βシートを含む。overall foldは、ribokinaseやadenosine kinaseと類似している。配列の類似性は、いくつかのキー残基が高く保存されているATP結合サイトで生じる。活性サイトは、三量体内の2つのサブユニット間のインターフェイスで形成される。	
753	MoaD related protein		1V8C	released	2004.1.20	モリブドプテリン(MPT)は窒素固定に必要な補因子で、MPT合成酵素により生合成される。MoaDはユビキチン様フォールドを持つMPT合成酵素のコンポーネントの一つであり、活性型ではそのC末端グリシンがチオカルボキシル化される。今回我々はThermus thermophilus HB8由来MoaD関連蛋白質の結晶構造を、MIR法により1.6Å分解能で決定した。本蛋白質はMoaDに類似したN末端ドメインと新規フォールドを持つC末端ドメインに分かれており、新規構造のC末端ドメインがどのような機能をもつかは非常に興味深い点である。	
754	conserved hypothetical protein TT1679		1V8D	released	2004.7.12	機能未知タンパク質TT1679は7本のβストランドからなる1枚のβシートと5本のαヘリックスから構成されており、結晶中では6量体を形成している。DALIで検索したところ、最大でもz-scoreが5.0程度と低いことから新規構造だと考えられる。	
755	glycerophosphoryl diester phosphodiesterase		1V8E	released	2005.1.18	グリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼは、グリセロフォスホジエステルの加水分解を触媒し、グリセロール3リン酸を生成する。大腸菌では、g1pQ(ペリプラズム型)、ugpQ(細胞質型)2つのグリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼをもつが、TT0487は、ugpQとより高い相溶性を持つ。今回我々は、高度好熱菌Thermus thermophilus HB8由来グリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼについて多波長異常分散法を用いて1.5Åの分解能で構造決定を行った。	
756	Pantoate-beta-alanine (pantothenate synthetase)		1V8F	released	2004.1.20	Pantothenate synthetase (PS)はパントテン酸合成経路の最後の酵素であり、coenzyme A (CoA)とacyl carrier proteins (ACP)の生合成の前駆体である。ATP依存性反応で、パントイン酸とβ-アラニンの縮合を触媒する。高度好熱菌PSの結晶構造を解像度1.90Åと2.05Å(one mutation)で決定した。構造は二量体で、各サブユニットは2つのドメインを持ち、それらは強固に結合している。大きなN末ドメインはRossmannフォールドを持ち、より小さな2層のC末ドメインは3ストランドの逆並行βシートの一層上にヘリカルレイヤーを持つ。大腸菌由来のPSや結核菌由来のPSとの比較で、活性部位がヌクレオチド結合タンパク質に典型的な中央の並行βシートのC末に位置していることがわかる。	
757	anthranilate phosphoribosyltransferase (TrpD)		1V8G	released	2004.1.20	アントラニル酸ホスホリボシルトランスフェラーゼ(TrpD)はトリプトファン合成経路の酵素の一つであり、アントラニル酸とホスホリボシルピロリン酸からホスホリボシルアントラニル酸を生成する反応を触媒する。今回我々はThermus thermophilus HB8由来TrpDの結晶構造を、MR法により2.1Å分解能で決定した。本酵素のフォールディングおよび会合状態は、既に結晶構造が報告されている腸内細菌Pectobacterium carotovorum由来のものに類似しており、2ドメインから成るサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた(アミノ酸配列同一残基率38%)。現在、結晶構造の比較によりTrpDの分子進化および耐熱化機構について検討中である。	
758	SoxZ		1V8H	released	2005.1.18	硫酸酸化は無機力源生物の主要なエネルギー獲得源であり、直接酸化反応に関わるSoxYZ蛋白質が同定されているが、その分子機構は未だ解明されていない。今回我々はThermus thermophilus HB8由来SoxZ蛋白質の結晶構造をSAD法により1.2Å分解能で決定した。本蛋白質はβ構造の新規フォールディングをとっていた。現在、その構造機能相関を明らかにするためSoxY蛋白質との複合体結晶の調製を試みている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
759	MutT/nudix family protein (ADP-ribose pyrophosphatase; Ndx4)		1V8I	released	2004.10.19	ADP-リボシル化の副産物であるADP-リボースを特異的に分解する酵素 (ADP-リボースピロホスホヒドロラーゼ; Ndx4) の立体構造を解明した。Ndx4は、MutT/nudixファミリーと呼ばれるタンパク質ファミリーに属する酵素で、基質複合体の立体構造を決定することにより、二量体化によって基質結合部位が形成される様子が明らかになった。また、リン酸エステル結合を特異的に切断する仕組みを原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。ADP-リボースの細胞内濃度が高くなると、非酵素的にタンパク質がADP-リボシル化され機能不全を引き起こすと言われている。Ndx4の原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細胞にダメージを与え、細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
760	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (ADP-ribose)		1V8L	released	2004.10.19	本酵素は、ADP リボースを AMP とリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
761	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (ADP-ribose+Gd)		1V8M	released	2004.10.19	本酵素は、ADPリボースをAMPとリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
762	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (Zn)		1V8N	released	2004.10.19	本酵素は、ADPリボースをAMPとリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
763	Ribosomal protein L27		1V8Q	released	2004.7.13	リボソーム大サブユニット中のペプチド結合転移反応の反応中心に近い位置に存在し、tRNAとの直接相互作用が知られている重要なタンパク質である。今回の精密な構造決定により、リボソーム中の構造モデルを正して、rRNAやtRNAとの相互作用に関する生化学実験結果と、整合性のある知見を得ることができた。リボソーム大サブユニット中の、ペプチド結合転移反応の反応中心に近い位置に存在し、tRNAとの直接相互作用が知られている重要なタンパク質である。今回の精密な構造決定により、リボソーム中で構造モデルを正して、rRNAやtRNAとの相互作用に関する生化学実験結果と、整合性のある知見を得ることができた。	
764	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (ADP-ribose+Zn)		1V8R	released	2005.2.22	本酵素は、ADPリボースをAMPとリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
765	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (AMP+Mg)		1V8S	released	2004.10.19	本酵素は、ADPリボースをAMPとリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
766	Ndx4, ADP-ribose pyrophosphatase (ribose-5'-phosphate+Mg)		1V8T	released	2004.10.19	本酵素は、ADPリボースをAMPとリボース-5リン酸に分解する酵素であり、広く保存されている。基質及び生成物との複合体構造を解析することにより、その反応機構の解明が進んだ。Ndx4 はADP-ribose pyrophosphatase であり、Ndx4 と基質、金属イオン複合体の立体構造を決定した。その結果、新たな反応機構として Glu70 が触媒残基であること、Glu82 と Glu86 が金属イオンと相互作用していることが示された。	
767	tryptophan synthase $\beta$ 2 subunit		1V8Z	released	2005.2.22	トリプトファン合成酵素は $\alpha$ 2 $\beta$ 24量体からなり、4量体(複合体)形成に伴ってそれぞれサブユニットの固有の機能を2桁程度高くすることが知られている。これまで、どの種からもトリプトファン合成酵素 $\beta$ サブユニット単独の構造は明らかにされていなかったが、本研究によって初めて、2.2Å分解能でX線結晶構造解析に成功した。そのことによって本酵素の機能解明に貢献した。	
768	5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)		1V93	released	2004.2.3	MTHFRはビタミンB2を補酵素として結合し、ホモシステインをメチオニンに代謝する際に必要なメチルテトラヒドロ葉酸を供給する反応を行う。ホモシステインは興奮性アミノ酸の一種で、その濃度の上昇は動脈硬化や血栓塞栓を引き起こす。ホモシステインのメチル化にかかわるMTHFRは血液中のホモシステインの濃度を基質である葉酸を通してコントロールしている。このように生体中で重要な機能を持つMTHFRの構造と機能を調べるために、その立体構造を1.9Å分解能で決定した。MTHFRの構造は8本の $\beta$ シートと8本の $\alpha$ ヘリックスからなるバレル(タル型)である。バレルの上部に割れ目があり、ここに補酵素であるビタミンB2が結合している。ビタミンB2の触媒作用部位であるフラビン環はバレルの中央の空洞側にあって、ここに酵素の活性部位が形成されている。MTHFRはメチルテトラヒドロ葉酸を供給することによって血液中の興奮性アミノ酸であるホモシステインの量を調節している。血液中のホモシステイン濃度の上昇は、動脈硬化や血栓などの循環器疾患をもたらす。MTHFRの生成物であるメチルテトラヒドロ葉酸の投与がホモシステイン濃度を劇的に低下させることも知られている。ヒトにはMTHFRの遺伝子に多型があり、この中にはMTHFRの活性が低下しているものがあり、活性低下によるホモシステイン濃度の上昇が循環器疾患の危険性を増加させると考えられている。このようにMTHFRの活性を調節することができれば、循環器疾患の発症を減らすことができると期待される。したがって、MTHFRは薬剤設計のターゲットタンパク質である。MTHFRの活性部位の構造が明らかになったので、活性部位を構成するアミノ酸とビタミンB2との相互作用に基づいて、活性化剤を合理的にデザインする道が開けたことになる。またH88由来のMTHFRの構造は高等動物の構造と相同であり、薬品開発のモデルタンパクとして使用できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
769	hypothetical protein of unknown function		1V96	released	2005. 2. 1	機能未知蛋白質PH0500は他のタンパク質と有意な配列相同性を示さないが、Pyrococcus属の超高温性古細菌に高度に保存されているため、新たな機能を持った蛋白質の発見につながると期待できる。	
770	Thioredoxin		1V98	released	2005. 2. 1	高度好熱菌由来thioredoxinの構造を、解像度1.8 Å、分子置換法で決定した。非対称ユニットにある140アミノ酸からなる2分子が非結晶性の二つ折り構造をとっているが、初めの50残基は無秩序になっている。生物学的ユニットはおそらく結晶性の二つ折り構造と関係する二量体と考えられており、8ストランドのβシートのコアが形成される。この配置は既知のthioredoxin構造の中では独特である。更に、全体のフォールドは、コアのβシートのβストランドとαヘリックスがそれぞれ1つ少ないthioredoxinのフォールドよりも小さい。興味深いことに、本フォールドは、機能の明確なより大きなタンパク質ファミリーに見られるthioredoxin様フォールドと類似している。	
771	periplasmic divalent cation tolerance protein CutA		1V99	released	2005. 2. 1	銅に対する細胞の耐性に関与が可能ないくつかの遺伝子座は、同定されている。真正細菌や古細菌におけるそのような遺伝子座の1つであるCut A1は、銅以外の様々の二価の陽イオンに対する細胞の耐性に関係すると考えられる。Cut A1の金属結合特性を明らかにするために、私たちはPh Cut A1のCo <sup>2+</sup> とCu <sup>2+</sup> (Co <sup>2+</sup> -phCutA1 and Cu <sup>2+</sup> -phCutA1, respectively) 複合体の構造を解析した。構造的に類似する分子結合金属は、ネイティブにcleftsにチャージした。しかしながら、Co <sup>2+</sup> -phCutA1複合体は、trimer-trimer interfaceで付加的なCo <sup>2+</sup> を含んでおり、またグルタミン酸側鎖によって認識される。	
772	Uroporphyrin-III C-methyl transferase (S-adenyl homocysteine)		1V9A	released	2005. 2. 1	高度好熱菌由来uroporphyrin III C-methyl transferaseの構造を分子置換法で決定し、apo因子およびco因子結合型の構造を精密化した。単量体は、ほぼ同じ2つのドメインからなり、これらはそれぞれ5つのストランドβシートと2つまたは3つのαヘリックスからなっていて、インターフェースでco因子と結合している。生物学的なユニットは、非対称ユニットに見られる二量体である。この二量体は非結晶性の二つ折り構造に関係しており、これによって2つのドメインは結合して長い10ストランドのβシートを形成し、全体の構造は、4つの軸を持つ4つのドメインのように見える。	
773	CutA1 (complexed with Co2+)		1V9B	released	2005. 2. 1	銅に対する細胞の耐性に関与が可能ないくつかの遺伝子座は、同定されている。真正細菌や古細菌におけるそのような遺伝子座の1つであるCut A1は、銅以外の様々の二価の陽イオンに対する細胞の耐性に関係すると考えられる。Cut A1の金属結合特性を明らかにするために、私たちはPh Cut A1のCo <sup>2+</sup> とCu <sup>2+</sup> (Co <sup>2+</sup> -phCutA1 and Cu <sup>2+</sup> -phCutA1, respectively) 複合体の構造を解析した。構造的に類似する分子結合金属は、ネイティブにcleftsにチャージした。しかしながら、Co <sup>2+</sup> -phCutA1複合体は、trimer-trimer interfaceで付加的なCo <sup>2+</sup> を含んでおり、またグルタミン酸側鎖によって認識される。	
774	precorrin-8X methyl mutase		1V9C	released	2004. 2. 10	ビタミン12のcorrin マクロサイクルの好氣的生合成における最終段階は、precorrin-8xのhydrogenobrynic acidへのリアレンジメントである。高度好熱菌のCobH (TtCobH) について、Pseudomonas denitrificans (Pd)からのCobHの座標を用いてMR法により、構造解析を行った。TtCobHのダイマー構造全体は、PdCobHに類似している。これらの活性化部位を比較したところ、Pd Tt CobH はPdCobHと同様の基質特異性を有することが示唆された。	
775	C subunit of V-type ATPase		1V9M	released	2004. 5. 4	V型H <sup>+</sup> -ATPaseは、構造および機能的なメカニズムの点においてもF型ATP合成酵素に類似している。これらは生体膜経由でのプロトン輸送に共役してATP加水分解を行なうが、ある種の古細菌や真正細菌では可逆反応のATP合成も行なう。CサブユニットはV型ATPaseの膜結合部位の一つである。セレンメチオニンタンパク質を用いたMAD法により、Thermus thermophilus由来のV型H <sup>+</sup> -ATPaseのCサブユニットの単斜晶系結晶を、1.85 Åの解像度で構造決定した。その結果、長短2本のヘリックスのみからなる先細の円錐型構造をもつことがわかった。分子は、基本的に同一であるトポロジーを互いに持つ、3つの類似したドメインに分けられる。構造上の特性と分子表面の電荷分布から考えると、Cサブユニットの底側はV0 proteolipid L-subunit ringとの結合部位であり、また、Cサブユニットは、proteolipid L-subunit ringと、回転するV1中心軸との間で、スパーサーユニットとして機能するのではないかと考えられる。	
776	malate dehydrogenase		1V9N	released	2005. 3. 29	リンゴ酸/乳酸脱水素酵素にはよく知られている酵素の他に古細菌などで見られる別のタイプの酵素があり、その詳細な反応機構は立体構造が報告されていないためよく分かっていない。今回我々はPyrococcus horikoshii OT3由来リンゴ酸/乳酸脱水素酵素の結晶構造を、MAD法により2.1 Å分解能で決定した。本酵素のフォールディングおよび会合状態は、大腸菌由来2,3-diketo-L-gluconate還元酵素のものと類似しており、3ドメインから成るサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた(アミノ酸配列同一残基率27%)。現在、結晶構造の比較によりリンゴ酸/乳酸脱水素酵素の分子進化について検討中である。また、本構造は補酵素として通常のNADではなくNADPを結合していたことから、活性測定によるNAD/NADP依存性の検討を行っている。	
777	Nitrogen regulatory protein P-II (GlnB) (without T-loop)+ADP		1V9O	released	2005. 1. 11	P-IIは、窒素代謝を制御する酵素群の一つで、グルタミン合成酵素の活性を調節するタンパク質である。高度好熱菌由来シグナル伝達タンパク質GlnK/GlnBは、リボソームタンパク質L31と相互作用していることが示唆されている。ADP結合型のGlnK/GlnBについて構造決定を行った。ADPの結合によって引き起こされる構造変化についての知見を得た。	
778	ウラシルホスホリボシルトランスフェラーゼ		1V9S	released	2005. 3. 29	ウラシルホスホリボシルトランスフェラーゼ (UPRT) はサルベージ過程によるUMPの生合成に関与する酵素であり、人間と下等生物における代謝経路の違いを利用した抗生物質の開発等に有用性がある。UPRTはホスホリボシルトランスフェラーゼ (PRT) ドメインと呼ばれるα/βドメインを持ち、二量体で機能すると考えられてきた。今回我々はThermus thermophilus HB8由来UPRTの結晶構造を、MAD法により2.1 Å分解能で決定した。本酵素は予想通りPRTドメイン1個からなるサブユニット構造を示したが、予想に反して四量体という新しい会合状態をとっていた。現在、機能(耐熱性および反応機構)と構造との関係を検討中である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
779	native form of uroporphyrin III C-methyl transferase		1VA0	released	2005.2.15	高度好熱菌由来uroporphyrin III C-methyl transferaseの構造を分子置換法で決定し、apo因子およびco因子結合型の構造を精密化した。単量体は、ほぼ同じ2つのドメインからなり、これらはそれぞれ5つのストランドドβシートと2つまたは3つのαヘリックスからなっていて、インターフェースでco因子と結合している。生物学的なユニットは、非対称ユニットに見られるに二量体である。この二量体は非結晶性の二つ折り構造に関係しており、これによって2つのドメインは結合して長い10ストランドのβシートを形成し、全体の構造は、4つの軸を持つ4つのドメインのように見える。	
780	lysozyme		1VAT	released	2005.3.8	トリ卵白リゾチームのヨウ素誘導体・キセノン誘導体の結晶を、超高エネルギー(～35keV)のX線を用いたMAD法(多波長異常分散法)で解析した最初の成功例である。Spring-8のビームラインBL41XUによって高精度のMADデータを収集することが可能になり、タンパク質結晶学に大きく貢献している。こちらはヨウ素誘導体である。	
781	lysozyme		1VAU	released	2005.3.8	トリ卵白リゾチームのヨウ素誘導体・キセノン誘導体の結晶を、超高エネルギー(～35keV)のX線を用いたMAD法(多波長異常分散法)で解析した最初の成功例である。Spring-8のビームラインBL41XUによって高精度のMADデータを収集することが可能になり、タンパク質結晶学に大きく貢献している。こちらはキセノン誘導体である。	
782	pyruvate phosphate dikinase		1VBG	released	2005.3.8	C4光合成植物代謝の中核酵素である。原虫や病原性細菌においては、ATP産生の中核であり、抗菌剤の標的となっている。	
783	pyruvate phosphate dikinase (+ligand)		1VBH	released	2005.3.8	C4光合成植物代謝の中核酵素である。原虫や病原性細菌においては、ATP産生の中核であり、抗菌剤の標的となっている。こちらは基質との複合体構造である。	
784	type 2 malate/lactate dehydrogenase		1VBI	released	2005.4.19	リンゴ酸/乳酸脱水素酵素にはよく知られている酵素の他に古細菌などで見られる別のタイプの酵素があり、その詳細な反応機構は立体構造が報告されていないためよく分かっていない。今回我々はThermus thermophilus HB8由来リンゴ酸/乳酸脱水素酵素の結晶構造を、MAD法により1.8Å分解能で決定した。本酵素のフォールディングおよび会合状態は、大腸菌由来2,3-diketo-L-gluconate還元酵素のものと類似しており、3ドメインから成るサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた(アミノ酸配列同一残基率25%)。現在、結晶構造の比較によりリンゴ酸/乳酸脱水素酵素の分子進化について検討中である。	
785	ThiI		1VBK	released	2005.4.19	重要なビタミンであるチアミンの生合成経路において、チアゾール部分とピリミジン部分は別々に合成されるが、ThiI蛋白質はチアゾール部分の生合成に必要であることが知られている。今回我々はPyrococcus horikoshii OT3由来ThiIの結晶構造を、SAD法により1.9Å分解能で決定した。本酵素は新規α/βフォールドを持つサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた。現在、分子表面残基保存度のマッピングにより本蛋白質機能の推定を行っている。	
786	Tyrosyl-tRNA synthetase complexed with Tyr-AMS		1VBM	released	2005.1.25	大腸菌チロシル-tRNA合成酵素と、反応中間体との複合体構造。真核生物、特に哺乳動物細胞や酵母において非天然型アミノ酸を導入する重要な鍵となり、非天然のアミノ酸を認識させるように酵素を改変する上で有用な情報が得られる。さらに性質の優れた改変酵素を得るための情報が得られると期待される。	
787	Tyrosyl-tRNA synthetase mutant complexed with Tyr-AMS		1VBN	released	2005.1.25	大腸菌チロシル-tRNA合成酵素と、反応中間体との複合体構造。真核生物、特に哺乳動物細胞や酵母において非天然型アミノ酸を導入する重要な鍵となり、非天然のアミノ酸を認識させるように酵素を改変する上で有用な情報が得られる。さらに性質の優れた改変酵素を得るための情報が得られると期待される。	
788	cysteinyl-tRNA synthetase		1VBQ	on_hold		アミノアシルtRNA合成酵素(DNAの遺伝情報を正しいタンパク質のアミノ酸配列にtRNAを介して翻訳する際に、特定のアミノ酸と対応するtRNAを結びつける酵素)のうち、これまで立体構造が明らかではなかった酵素の1つであるCysRSの立体構造を解明することによって、CysRSの両末端には近縁の合成酵素にはない特有のドメインが存在することを明らかにした。また、すでに明らかになっている近縁の合成酵素とtRNAとの複合体の立体構造からCysRSのtRNA結合様式に関するモデルを構築することで、N末端側のドメインがtRNAの結合に関わっている可能性があることを示した。アミノ酸の結合部位を改変することで、天然には存在しない新しいアミノ酸(非天然アミノ酸)を改変型CysRSの基質とすることができると考えられる。ただ、このアミノ酸をタンパク質のタンパク質の材料として用いることができるようにするためにはCysRSによるtRNAの結合様式を原子レベルの分解能で明らかにし、さらにそれを元にしたtRNAの結合部位の改変を行う必要があると考えられる。	
789	glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase		1VC2	released	2004.3.16	本蛋白質は、Thermus thermophilus由来のグリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ(GAPDH; EC 1.2.1.12)で、4量体酵素で、NAD+と無機リン酸の存在下で、グリセルアルデヒド3-リン酸を1,3-ジホスホグリセリン酸に触媒する酵素である。分子置換法により本酵素の構造を2.6Åの分解能で決定した。本酵素は4量体で機能するが、この蛋白質の結晶の非対称単位はモノマーであった。この蛋白質の全体構造はこれまでに報告されているThermus aquaticus由来のものに酷似していた。これまでに多くの生物からGAPDHの構造が高分解能で決定されている。それらは低温性ロブスター、高等生物、常温菌、中等度好熱菌、高度好熱菌、超好熱菌由来の酵素を含んでいる。それぞれの最適生育温度と構造の差異を詳細に検討することによって、好熱菌蛋白質の高温適応のメカニズムと蛋白質の熱安定化のメカニズムの解明が期待できる。	
790	L-Aspartate-α-Decarboxylase		1VC3	released	2005.6.28	本酵素はβアラニン生合成に必要なタンパク質であり、脊椎動物では神経系に存在する重要な酵素である。	
791	indole-3-glycerol phosphate synthase (TrpC)		1VC4	released	2004.3.23	Indol-3-glycerol phosphate synthase(TrpC)は、N-alkylated anthranilateを閉環し、3-alkyl indole誘導体を生成する反応を触媒する。この反応は、トリプトファン生合成経路の5番目の反応である。化学反応は、indoleのpyrrole環形成と二酸化炭素放出のために、事実上不可逆的である。高度好熱菌のTrpCの構造を、Sulfolobus solfataricus由来酵素を使用したMRで測定し、解像度1.8Åで精密化した。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
792	Ndx1, Ap6A hydrolase (Ap6A)		1VC8	released	2005. 4. 26	Nudix とは、“nucleoside diphosphate linked to x”の略称で、有害な物質や過剰に増加した代謝産物を分解すると言われている加水分解酵素の総称である。これまでの Nudix タンパク質の研究によって基質として (deoxy)nucleoside triphosphate, dinucleoside polyphosphate, nucleotide sugar, NADH, CoA などが同定されている。Nudix タンパク質はウイルス・バクテリアから植物・ヒトまで幅広く存在しているが、機能が解明されているものは非常に少ない。高度好熱菌 <i>Thermus thermophilus</i> HB8 ゲノムには、8個の Nudix タンパク質 (Ndx1 ~ Ndx8) がコードされているが、その中の Ndx1 タンパク質が生命現象の中でどのような役割を果たしているかを解明するために研究を行った。Ndx1 は126 アミノ酸からなり、Nudix タンパク質で高度に保存されている Nudix モチーフGX5EX7REUXEEXGU (U = I, L, V) をもっている。これはループ・ヘリックス・ループを形成し、基質の結合と分解に重要であると言われている。Ndx1 は Mg <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> が存在した場合に活性を有し、dinucleoside polyphosphate に特異的な分解活性を示した。最も活性の高かった基質は diadenosine hexaphosphate (Ap6A) で、これを2分子の ATP に加水分解し、最適反応条件はおおよそ pH 8.0, 70°Cであった。この対称的な分解パターンは他の Ap6A ヒドロラーゼにはない新規の活性だった。Ap4A, p4A, Ap5A, Ap6A に対する Km はほぼ一定であったが、kcatは基質によって異なった。これらの結果より、基質がタンパク質に結合する際に認識される部位は基質の一部であり、遷移状態ではその残りの部分もタンパク質と相互作用していることが示唆された。タンパク質・基質複合体のX線結晶構造解析において、基質が Ap4A の場合はアデノシン4リン酸部分を、Ap6A の場合はアデノシン5リン酸部分を電子密度で確認することができた。このことから、予想したとおり、結合に重要なのは片方のアデノシンといくつかのリン酸部分からなる基質の一部であることがわかった。結合しているアデニンには2つの芳香族アミノ酸がスタッキングしており、アデニンの6位のアミノ基やリボースの2'-OH, 3'-OH にはそれぞれ相互作用している残基が存在した。変異体の解析より、基質と相互作用しているループ上の残基を他のアミノ酸に置換すると Km が大きく減少したものがいくつかあり、Nudix モチーフ内で高く保存されているGlu-46 Glu-50を Glnに置換するとkcatのみが激減した。また、基質なしの構造に比べてタンパク質・基質複合体の構造は、基質結合部位周辺のループが閉じるように動いていたが、Nudixモチーフは全く動いていなかった。これらの結果は、Nudixモチーフは律速段階 (kcat) における基質の分解のみに寄与して、結合過程 (Km) に重要なのはループであることを示唆している。これは Nudixモチーフが基質の結合と分解の双方に働くという定説とは異なる結果である。	
793	Ndx1, Ap6A hydrolase (Mg+ATP)		1VC9	released	2005. 4. 26	Nudix とは、“nucleoside diphosphate linked to x”の略称で、有害な物質や過剰に増加した代謝産物を分解すると言われている加水分解酵素の総称である。これまでの Nudix タンパク質の研究によって基質として (deoxy)nucleoside triphosphate, dinucleoside polyphosphate, nucleotide sugar, NADH, CoA などが同定されている。Nudix タンパク質はウイルス・バクテリアから植物・ヒトまで幅広く存在しているが、機能が解明されているものは非常に少ない。本タンパク質は Nudix ファミリータンパク質の1つであり、2種類の基質複合体の構造解析を行うことにより基質認識機構を解明した。	
794	Ndx1, Ap6A hydrolase		1VCD	released	2005. 4. 26	Nudix とは、“nucleoside diphosphate linked to x”の略称で、有害な物質や過剰に増加した代謝産物を分解すると言われている加水分解酵素の総称である。これまでの Nudix タンパク質の研究によって基質として (deoxy)nucleoside triphosphate, dinucleoside polyphosphate, nucleotide sugar, NADH, CoA などが同定されている。Nudix タンパク質はウイルス・バクテリアから植物・ヒトまで幅広く存在しているが、機能が解明されているものは非常に少ない。本タンパク質は Nudix ファミリータンパク質の1つであり、2種類の基質複合体の構造解析を行うことにより基質認識機構を解明した。	
795	Phosphoribosyltransferase-related protein		1VCE	released	2005. 3. 29	蛋白質合成において重要な役割を果たす伸長因子EF-2はdiphthamideと呼ばれる翻訳後修飾を受けた特殊なヒスチジン残基を持っており、ジフテリア毒素はこのdiphthamideをADPリボシル化することによってEF-2を不活性化し毒性を発揮することが知られている。このdiphthamideの本来の役割はよく分かっていないが、3種類の酵素によって生合成されることが分かっている。diphthineメチルトランスフェラーゼ (DMT) はそれらの酵素の一つであり、S-アデノシルメチオニンによるメチル基転移反応を触媒する。今回我々は <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3由来DMTの結晶構造を、SAD法により2.1Å分解能で決定した。本酵素のフォールディングおよび会合状態は、ビタミンB12合成系のメチル基転移酵素であるCbiFのものと類似しており、2つのα/βドメインから成るサブユニットが2つ会合した二量体構造をとっていた(アミノ酸配列同一残基率23%)。現在、他の結晶構造との比較によりメチル基転移酵素の分子進化について検討中である。	
796	IPP isomerase		1VCF	released	2005. 4. 19	IPPイソメラーゼは、イソプレノイドの基本単位(イソプレニユニット)であるIPP(isopentenylpyrophosphate)とDMAPP(dimethylallylpyrophosphate)を相互変換する酵素である。このIPPイソメラーゼは、原核生物と真核生物とで性質や配列が異なる2つのタイプの酵素が存在するため、この酵素に結合して、その酵素作用を失わせる酵素阻害物質を見つけられれば、抗生物質の開発が可能と考えられる。	
797	IPP isomerase		1VCG	released	2005. 4. 19	IPPイソメラーゼは、イソプレノイドの基本単位(イソプレニユニット)であるIPP(isopentenylpyrophosphate)とDMAPP(dimethylallylpyrophosphate)を相互変換する酵素である。このIPPイソメラーゼは、原核生物と真核生物とで性質や配列が異なる2つのタイプの酵素が存在するため、この酵素に結合して、その酵素作用を失わせる酵素阻害物質を見つけられれば、抗生物質の開発が可能と考えられる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
798	Phosphoribosyltransferase-related protein		1VCH	released	2005. 3. 22	MAD法により、解像度1.9 Åで、高度好熱菌由来phosphoribosyltransferase関連タンパク質およびそのセレノメチオニン導入タンパク質の構造を決定した。非対称ユニットは175残基からなる5つの単量体を含み、それぞれがした一連の二量体のように配置されており、これがほぼ対称の二折り構造に関係している。二量体A/BおよびC/Dは対称な非結晶構造に関係しており、5つの単量体は、結晶性の二折り構造に関係している。単量体は、交差した一連のβシートとαヘリックスからなっているが、二量体のインターフェースは4つのαヘリックスバンドルと1つのループからなっている。インターフェースの2つの相互作用するループは、アルギニン残基のクラスターを特徴とし、強い正電気の帯電の要因となっているがこれがホスホリボシル結合と密接に関係している。	
799	CTP synthase (UTP--ammonia ligase) (PyrG)		1VCM	released	2004. 8. 31	CTP synthase (CTPs) はCTP合成経路の最終段階を触媒する酵素である。この反応は、CTPsのグルタミナーゼドメインで作られたアンモニアが、合成ドメインでATPのリン酸化を受けたUTPと反応し、CTPを生成するものである。グルタミンの加水分解はATPとUTPが存在するときに活性であり、アロステリックエフェクターであるGTPを付加するとさらに加速される。CTPsの活性はヒトのがん細胞で増加し、抗がん剤であるシクロペンテニルシトシンより阻害されると報告されている。CTPs はCTPレベルを制御する抵ウイルスあるいは抗がん剤の開発のためのターゲット酵素である。我々はネイティブ型CTPs、CTPs・3S042-複合体およびCTPs・グルタミン複合体の立体構造を決定した。CTPsは十字型のホモテトラマーである。CTPsの合成ドメインへの硫酸イオンの結合モードを参考にして、ATPとUTPをCTPsに組み込んだところ、触媒反応に好都合の幾何学的配置を持つモデル構造が得られた。グルタミナーゼドメインに結合したグルタミンは新規な五つ組触媒基と予想されるGlu-His-Cys-His-Gluと水分子に隣接していた。合成ドメインが溶媒領域に露出していること(グルタミナーゼドメインで生成したアンモニアが溶媒領域に拡散する)、GTP結合モチーフがグルタミナーゼと合成ドメインに分かれて存在する (GTPが結合できない) ことから、ATPとUTPの結合時には大きなコンホメーション変化が起こることが明らかになった。	
800	CTP synthase+sulfate anion		1VCN	released	2004. 8. 31	CTP synthase (CTPs) はCTP合成経路の最終段階を触媒する酵素である。この反応は、CTPsのグルタミナーゼドメインで作られたアンモニアが、合成ドメインでATPのリン酸化を受けたUTPと反応し、CTPを生成するものである。グルタミンの加水分解はATPとUTPが存在するときに活性であり、アロステリックエフェクターであるGTPを付加するとさらに加速される。CTPsの活性はヒトのがん細胞で増加し、抗がん剤であるシクロペンテニルシトシンより阻害されると報告されている。CTPs はCTPレベルを制御する抵ウイルスあるいは抗がん剤の開発のためのターゲット酵素である。我々はネイティブ型CTPs、CTPs・3S042-複合体およびCTPs・グルタミン複合体の立体構造を決定した。CTPsは十字型のホモテトラマーである。CTPsの合成ドメインへの硫酸イオンの結合モードを参考にして、ATPとUTPをCTPsに組み込んだところ、触媒反応に好都合の幾何学的配置を持つモデル構造が得られた。グルタミナーゼドメインに結合したグルタミンは新規な五つ組触媒基と予想されるGlu-His-Cys-His-Gluと水分子に隣接していた。合成ドメインが溶媒領域に露出していること(グルタミナーゼドメインで生成したアンモニアが溶媒領域に拡散する)、GTP結合モチーフがグルタミナーゼと合成ドメインに分かれて存在する (GTPが結合できない) ことから、ATPとUTPの結合時には大きなコンホメーション変化が起こることが明らかになった。	
801	CTP synthase (UTP--ammonia ligase) (PyrG)		1VCO	released	2004. 8. 31	CTP synthase (CTPs) はCTP合成経路の最終段階を触媒する酵素である。この反応は、CTPsのグルタミナーゼドメインで作られたアンモニアが、合成ドメインでATPのリン酸化を受けたUTPと反応し、CTPを生成するものである。グルタミンの加水分解はATPとUTPが存在するときに活性であり、アロステリックエフェクターであるGTPを付加するとさらに加速される。CTPsの活性はヒトのがん細胞で増加し、抗がん剤であるシクロペンテニルシトシンより阻害されると報告されている。CTPs はCTPレベルを制御する抵ウイルスあるいは抗がん剤の開発のためのターゲット酵素である。我々はネイティブ型CTPs、CTPs・3S042-複合体およびCTPs・グルタミン複合体の立体構造を決定した。CTPsは十字型のホモテトラマーである。CTPsの合成ドメインへの硫酸イオンの結合モードを参考にして、ATPとUTPをCTPsに組み込んだところ、触媒反応に好都合の幾何学的配置を持つモデル構造が得られた。グルタミナーゼドメインに結合したグルタミンは新規な五つ組触媒基と予想されるGlu-His-Cys-His-Gluと水分子に隣接していた。合成ドメインが溶媒領域に露出していること(グルタミナーゼドメインで生成したアンモニアが溶媒領域に拡散する)、GTP結合モチーフがグルタミナーゼと合成ドメインに分かれて存在する (GTPが結合できない) ことから、ATPとUTPの結合時には大きなコンホメーション変化が起こることが明らかになった。	
802	Potassium channel related protein		1VCT	released	2005. 3. 22	Pyrococcus horikoshii OT3 (Ph) のPH0236タンパク質は、Kチャネル関連タンパク質として考えられている。本タンパク質について、高塩濃度溶液より結晶化し、構造についてはSIR法を用いて解析した。その結果、ホモテトラマーを構成しており、イオン結合部位を有することが明らかとなった。K <sup>+</sup> 、Ca <sup>2+</sup> 、Cs <sup>+</sup> のイオンを持つ結晶について構造解析を行った。さらに、低濃度の塩を含む溶液についても結晶化を行い、現在、構造とイオン結合部位について解析を進めているところである。	
803	glycerophosphoryl diester phosphodiesterase		1VD6	released	2005. 4. 5	グリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼは、グリセロフォスフォジエステルの加水分解を触媒し、グリセロール3リン酸を生成する。大腸菌では、gIpQ(ペリプラズム型)、ugpQ(細胞質型) 2つのグリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼをもつが、Tf0487は、ugpQとより高い相同性を持つ。今回我々は、高度好熱菌 Thermus thermophilus HBS 由来グリセロール3リン酸ホスホジエステラーゼについて多波長異常分散法を用いて1.5 Åの分解能で構造決定を行った。	
804	muconolactone isomerase-like protein		1VDH	released	2004. 9. 22	立体構造情報に基づき、当該蛋白質が亜塩素酸ジスルターゼと相同なヘム蛋白質であることを見出した。この知見を利用すれば耐熱性の亜塩素酸分解酵素を創生することが可能となり、水道水やプールの水処理、繊維、ハルブ、製紙工業分野での排水中に含まれる亜塩素酸分解処理に有用である。	
805	fumarase		1VDK	released	2004. 4. 13	クラス2フマル酸ヒドラーゼ(フマラーゼ)はフマル酸からリンゴ酸を生成する反応を触媒する。今回我々はThermus thermophilus HBS由来フマラーゼの結晶構造を、MR法により1.8Å分解能で決定した。本酵素は既に報告されている2種類の生物種由来酵素またはアスパルターゼに類似し、3つのドメインを持つサブユニットが4つ会合した四量体構造をとっていた。耐熱性フマラーゼとしては初めての構造であるので、耐熱性と構造の関係についての議論が可能である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
806	purine phosphoribosyltransferase		1VDM	released	2005.5.24	プリンホスホリボシルトランスフェラーゼ (PPRTs) はサルベージ過程によるプリンヌクレオチドの生成に関与する酵素であり、人間と下等生物における代謝経路の違いを利用した抗生物質の開発等に有用性がある。PPRTsはホスホリボシルトランスフェラーゼ (PRT) ドメインと呼ばれる $\alpha/\beta$ ドメインを持ち、二量体または四量体で機能すると考えられてきた。今回我々は <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3由来PPRTの結晶構造を、MIR法により2.5Å分解能で決定した。本酵素は予想通りPRTドメイン1個からなるサブユニット構造を示したが、予想に反して12量体という新しい会合状態をとっていた。現在、機能(耐熱性および反応機構)と構造との関係を検討中である。	
807	hypothetical protein PH1897		1VDW	released	2004.4.6	<i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 (Ph) のPH1897タンパク質は、inositol-1-monophosphataseとされている。今回、MR法により、PH1897の結晶構造について解析した。また、これまでにこの酵素と高いホモロジーを有するタンパク質 ( <i>Methanococcus jannaschii</i> (ID:45%)と <i>Archaeoglobus fulgidus</i> (ID:35%)の2種類)の結晶構造について報告されており、これらのタンパク質の機能は、inositol monophosphates と fructose 1,6-bisphosphateに対する活性を有する、とされている。	
808	2'5' RNA-ligase like protein		1VDX	released	2005.4.12	2'5' RNAリガーゼに類似する <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3 由来のタンパク質の構造は、それと30%の相同性を持つ <i>Thermus thermophilus</i> 由来の2'5' RNAリガーゼの構造で使用した2.4 Åにて解析した。非対称のユニットの中に184aaの単一分子がある。 $\alpha$ -ヘリックスと $\beta$ -シートの複雑にmixしたその構造は、中心に7つのストランドした $\beta$ -シートを核とし2つのsubsidiaryな $\beta$ -シートで作られている。大きいクレフトは、構造の外側の4つの大きい $\alpha$ -ヘリックスとともに $\beta$ -シートによって支配されている。	
809	O-acetylserine sulfhydrylase (OASS: Cysteine Synthase)		1VE1	released	2005.4.19	OASSはビタミンB6依存型酵素の一つで、O-アセチル-L-セリンのアセチル基をスルフィドで置換することによって、L-システインを合成する酵素である。OASSは分子量約35,000の同一サブユニットからなる2量体酵素である。サブユニットは大ドメインと小ドメインからなり、ドメイン間に大きなくぼみがある。このくぼみの底にビタミンB6が結合することにより活性部位が形成されている。反応物が活性部位に接近すると、小ドメインが約13°回転して、反応物を酵素内に閉じ込めることがわかった。OASSが触媒する複雑な反応は、水分子の反応物への攻撃を阻止するために反応物を溶媒領域から隔離し、活性部位内の反応に最も好都合な位置に反応物を強く結合させることにより達成されていることがわかった。OASSが分子機械としての回転機構を持ち、反応物を活性部位内に完全に閉じ込める機能を持つことが重要である。硫化水素は火山の噴火あるいは生物汚化水田から発生することもあれば、工場などから排水中へと放出されることもある。放出された硫化水素は人類や植物にとって有害な物質である。またタバコを吸うことにより発生した硫化水素を体内に取り込まれるという問題もある。OASSは硫化水素を利用して無毒な(有用な)システインを合成することができる。OASSを導入したタバコは硫化水素に対して耐性を持つことも知られている。このようにOASSの用途として硫黄大気汚染物質の浄化・解毒が考えられる。さらにHBS由来のOASSは耐熱性を有するため安定であり、様々な条件で使用することが可能である。	
810	uroporphyrin-III-C-methyltransferase		1VE2	released	2005.4.12	ヘム合成は必須過程であり、ヘム合成経路の酵素的ステップはあらゆる進化で保存されてきた。MAD法により、解像度2.3 Åで、高度好熱菌由来uroporphyrin-III C-methyltransferaseの構造を決定した。その構造は、2つのa/bドメインからなり、これらには腎臓型分子を形成する小さな1つのヘリックスがリンクしている。両ドメインとも、側面に3つの $\alpha$ -ヘリックスがついた5つのストランド $\beta$ -シートを含むが、2つのドメインのトポロジーに類似性はない。全体の構造は、 $\beta$ - $\alpha$ の繰り返しパターンに従っているが、唯一C末ドメインの終末は $\beta$ -ヘアピン構造をとっている。嫌気性cobalt-precorrin-4-transmethylaseと好気性precorrin-4-transmethylaseのアミノ酸配列のアライメントでは、多くの保存領域の存在が認められる。これらの保存残基のうち9残基が、S-adenosyl-L-homocysteineの結合に関与しており、残りはprecorrin結合部位を形成している。	
811	PH0226 protein		1VE3	released	2005.5.24	S-アデノシルメチオニン (SAM) によるメチル基転移反応を触媒するメチルトランスフェラーゼは様々な構造と基質特異性を持ったものが報告されている。今回我々は <i>Pyrococcus horikoshii</i> OT3由来メチルトランスフェラーゼの結晶構造を、MAD法により2.1Å分解能で決定した。本酵素は大小2つの $\alpha/\beta$ ドメインから成るサブユニットの単量体構造をとっており、SAM分子を結合していた。現在、他の結晶構造との比較と分子表面残基保存度のマッピングにより、本酵素機能の推定とメチル基転移酵素の分子進化について検討中である。	
812	ATP phosphoribosyltransferase (HisG)		1VE4	released	2005.6.21	本酵素はヒスチジン合成における最重要酵素である。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
813	threonine dehydratase (deaminase)		1VE5	released	2005.4.19	本酵素は、分岐鎖アミノ酸合成系に働く酵素であり、トレオニンを2-オキソ酪酸とアンモニアにする反応を触媒する。本酵素は4量体であり、イソロイシンによる負の制御を受けるアロステリック酵素である。	
814	acetylornithine aminotransferase (ArgD)		1VEF	released	2005.8.2	本酵素は、アセチルオルニチンとグルタミン酸を基質とするアミノ基転移酵素であり、 <i>Thermus thermophilus</i> ではリジン合成系で働くと考えられる。本酵素はグルタミン酸を結合し、一般のアミノ基転移酵素と同様に $\alpha$ -アミノ基がPLPと Schiff塩基を形成するが、アセチルオルニチンが結合する場合は、 $\delta$ -アミノ基と Schiff塩基を形成するという特徴を有する。基質アナログ複合体の構造解析からその基質認識機構を明らかにした。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
815	tRNA nucleotidyltransferase (complexed with a primer tRNA and an incoming ATP analog)		1VFG	released	2004. 8. 10	CCA付加酵素は、DNAなど核酸の鋳型なしで特定の配列のRNAを合成できる、極めて特徴的なRNAポリメラーゼである。しかし、これまでのところCCA付加酵素がどのようにして核酸の鋳型の助けを借りずに決まった配列を合成できるのかについては未解決であった。今回、CCA付加酵素とプライマーとなるtRNA前駆体(A76を欠く)と基質であるATPの複合体の立体構造をX線結晶構造解析により決定し、その立体構造に基づいて37種類におよぶ酵素の変異体を作成しアデニン(A)結合活性を測定した。その結果、CCA付加酵素が、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、tRNAの末端が伸縮することで、鋳型なしでも特異的にCCA配列を結合させることができることを明らかにした。最近、鋳型依存性RNAポリメラーゼの結晶構造が次々と発表されているが、これまでに鋳型非依存性RNAポリメラーゼとプライマー、基質の複合体の結晶構造解析がなされた例はなかった。本解析によって、CCA付加酵素という、すべての生物でタンパク質合成に必須な鋳型非依存性RNAポリメラーゼの反応メカニズムを解明し、これまでの仮説をすべて否定することとなり、生物学の教科書を塗り替えることになると考えられる。また、本構造に基づいてCCA付加酵素の変異体をデザイン・作成することで、天然にないアミノ酸を結合したtRNAを作出することも可能になり、これまでにない非天然アミノ酸を含むタンパク質を合成することができれば、タンパク質工学の分野に大きく貢献できると考えられる。	
816	Nitrogen regulatory protein P-II (GlnB) (with T-loop)		1VFJ	released	2005. 1. 11	P-IIは、窒素代謝を制御する酵素群の一つで、グルタミン合成酵素の活性を調節するタンパク質である。高度好熱菌由来シグナル伝達タンパク質GlnK/GlnBは、リボソームタンパク質L31と相互作用していることが示唆されている。異なる結晶化条件で得られた結晶を測定し、構造決定を行った。この結晶では、機能的に重要な役割を果たすと示唆されているT-loopの構造をとらえることが出来た。さらに、結晶中の分子によって、T-loopの構造に多型がみられることから、この構造多型が、分子間相互作用に重要であることが示唆された。	
817	conserved hypotheticala protein TT1634		1VGG	released	2004. 10. 26	多くの生物に共通して保存されている機能未知タンパク質の機能を立体構造から推測することができる可能性がある。高度好熱菌由来のタンパク質は安定性が高く、産業利用も容易である。	
818	ウロポルフィリノゲンIIIシターゼ (uroporphyrinogen III synthase)		1WCW	released	2005. 5. 6	ウロポルフィリノゲンIIIシターゼは、ポルフィリン合成経路の第4反応を触媒する酵素である。生成物ウロポルフィリノゲンIIIは、ヘム、ビタミンB12、クロロフィル、F430といった全てのポルフィリン化合物生成の出発物質である。したがって、本酵素は全生物に必須である。これまでヒト由来の酵素の立体構造のみが報告されていたが、微生物由来酵素の構造が解明されれば、それに特異的な阻害剤、すなわち新規抗生物質を設計・開発することが可能となる。本研究では、細菌由来酵素の結晶構造を1.3Åの高分解能で、初めて明らかにすることに成功した。細菌とヒトの酵素を比較すると、二つのドメインの位置が大きく異なっていた。また、異なる結晶化条件で得られた2種類の結晶構造から、反応中に触媒部位に大きなコンフォメーション変化が起こることが示唆された。	
819	ウロポルフィリノゲンIIIシターゼ (uroporphyrinogen III synthase)		1WCX	released	2005. 5. 6	直鎖テトラピロールのヒドロキシメチルピランから巨大環状物ウロポルフィリノゲンIIIへの環化反応を触媒する。ウロポルフィリノゲンIIIはヘム、シロヘム、クロロフィル、ビタミンB12、補酵素F430等の生合成の出発物質であるから、本酵素は全生物に必須。関連疾患として先天性赤芽球性ポルフィリン症(不要なI型ポルフィリンが体内に過剰に蓄積し、高度の光線過敏症を発症する)が挙げられる。	
820	Predicted phosphoribosyltransferase (TT1426)		1WD5	released	2004. 11. 11	ホスホリボシル転移酵素(PF00156)は、phosphoribosyl-pyrophosphate(PRPP)のphosphoryl基を、様々な基質に対して転移する。TT1426はこのドメインを有する。解析された全体構造はadenine phosphoribosyltransferase(APRT)に類似していたが、アデニン認識部位に特徴的な構造は見出されなかった。おそらく未知基質をターゲットにする新規グループであり、今後、in silico解析などで基質を特定する予定である。	
821	hypothetical protein		1WD6	released	2004. 11. 12	大腸菌の機能未知タンパク質。今回決定した立体構造のDALIサーチより、actva-orf6 monooxygenaseと似ていることがわかった。このactva-orf6 monooxygenaseは抗生物質アクチノロジン(ACT)生合成に関与する芳香族中間体の酸化を触媒する酵素である。ただし、monooxygenaseファミリーに保存されている残基がJW1657では保存されていないため、別の反応を触媒する酵素かもしれない。	
822	ウロポルフィリノゲンIIIシターゼ (uroporphyrinogen III synthase)		1WD7	released	2004. 11. 12	ウロポルフィリノゲンIIIシターゼは、ポルフィリン合成経路の第4反応を触媒する酵素である。生成物ウロポルフィリノゲンIIIは、ヘム、ビタミンB12、クロロフィル、F430といった全てのポルフィリン化合物生成の出発物質である。したがって、本酵素は全生物に必須である。これまでヒト由来の酵素の立体構造のみが報告されていたが、微生物由来酵素の構造が解明されれば、それに特異的な阻害剤、すなわち新規抗生物質を設計・開発することが可能となる。本研究では、細菌由来酵素の結晶構造を1.3Åの高分解能で、初めて明らかにすることに成功した。細菌とヒトの酵素を比較すると、二つのドメインの位置が大きく異なっていた。また、異なる結晶化条件で得られた2種類の結晶構造から、反応中に触媒部位に大きなコンフォメーション変化が起こることが示唆された。	
823	Diphthine synthase (S-adenosyl-L-methionine(adoMet) - dependent methyltransferase)		1WDE	released	2004. 11. 13	Diphthine Synthase (S-adenosyl-L-methionine(adoMet)依存性メチル基転移酵素)は真核生物、および古細菌が持つタンパク質合成における伸長因子elongation factor(EF-2)のdiphthamide residueの3段階ある翻訳後修飾の2段階目の反応に必要な酵素である。本酵素は基質であるEF-2の特定のヒスチジン残基をadoMet依存的にトリメチル化する。	
824	QueA		1WDI	released	2004. 11. 17	QueAは、真核生物/真正細菌のtRNAに見出される修飾塩基キューオシンの合成に必須である。真核生物のtRNA中のキューオシンの割合は、細胞増殖や分化および発生の段階と関連がある。また、AdoMetをリボシル基供与体とすることが明らかになった最初の酵素であり、その機能発現の機構を解明するために、立体構造解析が待た望まれていた。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
825	Conserved hypothetical protein TT1808		1WDJ	released	2004. 11. 17	TT1808は保存性が高く、特に藍藻でよく見られるタンパク質である。Pfam上では、DUF820と呼ばれる機能未知ドメインファミリーに属し、今回の構造は、このファミリーの中で初めて明らかになったものである。構造は中央部に6枚づつのβシートからなる2枚のβシートを持ちこれが疎水性コアとなって周りをαヘリクスが取り囲むα/β構造を形成する。非対称単位中に3分子を含み、うち2分子は分子間でβシートを形成し2量体構造をとっている。	
826	EF-G homolog		1WDT	released	2005. 5. 17	GTP加水分解によって活性発現する、タンパク質合成に必須な翻訳伸長因子EF-Gのホモログである。また、EF-G-2は、機能的にもEF-Gを相補することを、確認してある。これまで、EF-Gは、ヌクレオチドフリー型やGDP結合型(不活性型)の構造決定がなされているが、GTP結合型(活性型)の報告は、今回初めてであり、活性部位の構造や、GDP型との構造の違いに関する、新たな知見が得られた。	
827	APE2540		1WDV	released	2004. 11. 18	APE2540はβシートを疎水性コアに持つα/β混合フォールドであり非対称単位中に2分子を含む。構造ホモログ(1DBU)ではヌクレオチドとの結合が示唆されている。	
828	tryptophan synthase A2B2 complex		1WDW	released	2005. 7. 12	超好熱菌、P. furiosus由来のトリプトファン合成酵素αβ24量体の立体構造の解明に成功した。これで、P. furiosus由来のαサブユニット、βサブユニット、及びαβ2複合体の構造のセットが初めて示されたことになる。このことにより、複合体形成に伴う増幅機構の解明に貢献した。	
829	IRSp53 RCB		1WDZ	released	2005. 6. 7	ヒト由来タンパク質IRSp53-Rac結合ドメインの構造解析を行った。細胞の葉状仮足形成はRacからのシグナルがWAVEに伝達され、このWAVEが活性化しArp2/3複合体と結合してアクチンの重合を促進することで引き起こされる。RacとWAVEは直接結合できないことがわかっていたがIRSp53(insulin receptor substrate p53)がRacとWAVEとの間のシグナル伝達に関与する事が見出された。今回このIRSp53のRacとの結合部位の結晶構造解析を行った。結晶構造は2.63Åの分解能で決定され、それぞれ3本のαヘリックスが筒状にコイルを形成し2量体として観察された。構造類似体の検索ではArfaptinとの相同性が見出され、構造の比較検討から2量体中央部へのRacの結合が予想されている。	
830	possible lysine decarboxylase		1WEH	released	2004. 11. 25	TT1465と並んでThermus thermophilusにも一つ存在する、Possible lysine decarboxylaseである。TT1887は四量体をとっており、モノマーはTT1465と類似したRossmann foldをとることが分かった。	
831	possible lysine decarboxylase		1WEK	released	2004. 11. 25	TT1887と並んでThermus thermophilusにも一つ存在する、Possible lysine decarboxylaseである。Possible lysine decarboxylaseは、バクテリアに広く保存される。構造解析の結果、Rossmann foldをとる単量体からなる六量体構造を有することが分かった。	
832	GTP-binding protein ERA		1WF3	released	2004. 11. 25	N末端側のGTP結合ドメインは、構造的に非常にH-Ras(ras遺伝子によってコードされている低分子量GTP結合タンパク質)とよく似ている。今回、バクテリアのEraでは初めて、GDPNPとの複合体で結晶化、構造解析を行うことができ、その結合様式までRasと似ているということが分かった。bとgのリン酸結合間のN原子付近に水分子が存在し、加水分解直前の状態で構造解析を達成している。また、C末端側ドメインは、既に解かれているC末端側のKH-ドメインの構造とよく似ており、実際に30Sリボソームサブユニットに結合することも手元の実験で証明されていることから、そのRNA結合能を構造と生化学的実験から証明できた。KH-ドメインによく保存されている、KH-ドメイン conserved sequenceも持っている。9-23, 35-44, 57-65, 131-138の4箇所がGTP結合モチーフである。Ser21, Thr42, Asp61がGDPNPとの結合に直接関与している。	
833	2'-phosphotransferase		1WFX	released	2004. 11. 27	RNA2'-phosphotransferaseは、tRNA splicingの過程でtRNAの2'-phosphateをNADに転移する酵素である。この反応により、ADP-ribose 1"-2" cyclic phosphateとニコチンアミドを生じる。N末端ドメインとC末端ドメインが1本のβストランドによってつながれている。バクテリア(TT)の2'-5' RNA Ligaseとトポロジーは全くちがうが酵素の中央にポケットがあり、何かをはさむような全体構造が似ている。N末端ドメインはSe1BのIVドメインに、C末端ドメインはADPリボシル化を行うバクテリアトキシンのNAD結合部位の構造と似ている。NAD結合ポケット ADPリボシル化を行うバクテリアトキシファミリー(ジフテリアトキシン、コレラトキシンなどが属す)のNAD結合部位とAPE0204のC末端ドメインの構造が重なる。	
834	NAS6	26S proteasome regulatory subunit	1WG0	released	2005. 6. 7	本解析タンパク質はユビキチン化されたタンパク質をATP依存的に分解する、26Sプロテアソームを制御するサブユニットである。rtp3と結合するためのドメインを有する。β-hairpin-α-hairpin リピートフォールドをとっており、Ankyrin repeatファミリーに属する。	
835	ASF1		1WG3	released	2005. 6. 14	全長タンパク質はヒストンH3/H4に結合する分子シャペロンで、ヌクレオソームの分子集合を促進する。このドメインは、ヒト転写基本因子TFIIDのCCG1サブユニット、チェックポイントキナーゼRAD53に結合するドメインである。p53免疫グロブリン様フォールドであるという構造上の特性が明らかになっている。	
836	S-adenosylmethionine-dependent methyltransferase		1WG8	released	2004. 11. 27	TT1512はS-adenosyl-L-methionine (adoMet)依存性メチル基転移酵素である。本酵素の遺伝子MrAwが細胞分裂に関与する遺伝子クラスターに存在すること、低濃度のadoMetにおいて細胞分裂が抑制されることから、微生物の細胞分裂の際に本酵素のメチル基転移活性がなんらかのシグナルを伝えていると考えられる。	
837	probable flavoprotein		1WGB	released	2004. 11. 28	他の生物種でも保存されている機能未知 flavoprotein であり、構造解析から新たな機能の発見につながると期待される。	
838	carboxypeptidase 1		1WGZ	released	2005. 5. 28	本解析タンパク質はタンパク質のC末端からアミノ酸に分解する酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。	
839	hypothetical protein		1WHZ	released	2004. 11. 28	他の生物種でも保存されている機能未知蛋白質なので、新たな機能を持った蛋白質の発見につながると期待できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
840	glucose-6-phosphate isomerase like protein		1WIW	released	2004.11.28	他の生物種でも保存されている機能未知蛋白質なので、新たな機能を持った蛋白質の発見につながると期待できる。	
841	6-coordinated cytochrome P450		1WIY	released	2004.11.28	新しい代謝反応(カロチノイド水酸化反応)を行う酵素として、生化学的に価値があり、また耐熱性Cytochrome P450として、産業的にも重要性がある。	
842	CRISPR-associated protein		1WJ9	released	2004.11.29	他の生物種で保存されているタンパク質ファミリーの最初の代表構造であり、新規な機能の発見につながると期待できる。	
843	probable ATP binding protein		1WJG	released	2004.11.29	このタンパク質には新規なATP結合モチーフと思われる部位が存在しており、その構造を明らかにすることで、タンパクとATPの結合に関する新たな知見が得られることなどが期待される。また、高度好熱菌由来のタンパク質は安定性が高く、産業利用も容易である。	
844	small protein B [SsrA(tmRNA)-binding protein]		1WJX	released	2004.11.29	リボソーム修復機構トランスランスレーションにおける必須分子の1つで、tmRNAアミノアシル化、及びtmRNAのリボソームA部位への進入を促進する。今回の原子分解能での解析で、SmpBは単純なβバレル構造でなく、より柔軟性のあるツイスト型のβバレルであることが示された。これは、tmRNA・SmpB複合体が一連の異なる会合分子(アミノアシルtRNA合成酵素、延長因子、リボソームなど)に対応する為の、構造特徴であると推測される。トランスランスレーションはタンパク合成における細胞内品質を制御しており、構造を考慮しSmpB変異体を作成することで、高品質タンパク合成系を作製できる可能性がある。	
845	small protein B		1WJY	on_hold		tmRNAは、リボソーム修復機構トランスレーションの主要素である。また、SmpBは、tmRNA折りたたみを補助する分子シャペロンで、1連の反応を促進する。このシステムは、リボソーム、mRNA、タンパク質の品質管理に関与しているため、複合体を構造解析し分子メカニズムを明らかにすることにより、セルフリータンパク質合成の効率促進材料として応用できる可能性がある。	
846	hypothetical protein		1WK2	released	2004.11.30	他の生物種でも保存されている機能未知蛋白質なので、新たな機能を持った蛋白質の発見につながると期待される。	
847	PylS		1WK3	on_hold		アミノアシルtRNA合成酵素様蛋白質PylSはメタン生産古細菌由来メチルトランスフェラーゼORF内終止コドンのピロリジンリコーディングに関わると考えられているが正確な機能はわかっていない。PylSの構造、機能、およびピロリジンリコーディング機構を解明することで新規非天然アミノ酸の蛋白質への導入、およびメタン資源の効率的生産への応用が期待できる。	
848	probable acetyltransferase		1WK4	released	2004.11.30	立体構造の解析により、TT1606はアセチル基転移酵素スーパーファミリーに属し、酵母由来ヒストンアセチル基転移酵素Hpa2と非常に類似していることが明らかになった。アセチル基供与体(コエンザイムA)のリン酸基が結合する部位には、結晶化剤に含まれるMESバッファー分子が非常に類似した様式で結合している。	
849	PrmA (in complex with S-adenosyl-L-methionine)		1WK5	on_hold		PrmAは、原核生物に広く保存されているAdoMet依存性メチル基転移酵素であり、リボソームタンパク質L11のアミノ酸残基を3カ所でトリメチル化する。L11はC端ドメインでリボソームRNAと結合しており、リボソームに結合する因子群との相互作用には、N端ドメインが関与していることが示唆されている。PrmAによる修飾部位が全てこのN端ドメインに集中していることから、L11の特定のアミノ酸残基のメチル化が、タンパク質合成や栄養飢餓応答に重要な役割を果たしている可能性が高い。本構造は、メチル基の供与体であるAdoMetがPrmAに結合した「メチル基転移反応前」複合体である。AdoMetとの新規な相互作用により、遊離型では構造をとっていなかったループが、安定化していることが判明した。このループはPrmAで最も保存性が高い領域であり、立体構造的にその重要性が裏付けられた。	
850	PrmA (in complex with S-adenosyl-L-homocysteine)		1WK6	on_hold		PrmAは、原核生物に広く保存されているAdoMet依存性メチル基転移酵素であり、リボソームタンパク質L11のアミノ酸残基を3カ所でトリメチル化する。L11はC端ドメインでリボソームRNAと結合しており、リボソームに結合する因子群との相互作用には、N端ドメインが関与していることが示唆されている。PrmAによる修飾部位が全てこのN端ドメインに集中していることから、L11の特定のアミノ酸残基のメチル化が、タンパク質合成や栄養飢餓応答に重要な役割を果たしている可能性が高い。本構造は、AdoHcyがPrmAに結合した「メチル基転移反応後」複合体である。「メチル基転移反応前」複合体との比較により、メチル基の転移に伴う構造変化を詳細に解析することができた。特に、構造が不安定化している99番のフェニルアラニン残基が、補酵素上のメチル基の有無を感知している可能性が示唆された。	
851	PrmA (in complex with sinefungin)		1WK7	on_hold		PrmAは、原核生物に広く保存されているAdoMet依存性メチル基転移酵素であり、リボソームタンパク質L11のアミノ酸残基を3カ所でトリメチル化する。L11はC端ドメインでリボソームRNAと結合しており、リボソームに結合する因子群との相互作用には、N端ドメインが関与していることが示唆されている。PrmAによる修飾部位が全てこのN端ドメインに集中していることから、L11の特定のアミノ酸残基のメチル化が、タンパク質合成や栄養飢餓応答に重要な役割を果たしている可能性が高い。本構造は、AdoMet/AdoHcyに類似した阻害剤であるsinefunginがPrmAに結合した「メチル基転移阻害」複合体である。99番のフェニルアラニン残基を含む最も保存性が高いループは、遊離型と同様に構造をとっていなかった。この阻害剤の作用機序が原子レベルで明らかになっただけでなく、このループの構造安定化/不安定化の重要性が、あらためて示された。	
852	IleRS editing domain +Val-AMS		1WK8	released	2005.9.27	イソロイシルtRNA合成酵素の校正(editing)反応を担うドメインとVal-AMPアナログとの複合体構造。校正時のVal-AMPの認識様式を正確に解明した。バレルtRNA合成酵素の校正ドメインにおけるThr-AMS認識と明らかに異なることを証明した。校正部位を改変することによりアミノアシル化部位を非天然アミノ酸を認識するように変化させた人工遺伝暗号系の構築が期待される。生存に必須なドメインのため阻害剤設計により抗生物質や抗癌剤の開発が期待できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
853	Valyl-tRNA Synthetase cpl domain/Thr AMS complex		1WK9	released	2005.6.28	バリン-tRNA合成酵素の校正(editing)反応を担うドメインとThr-AMPアナログとの複合体構造。校正時のThr-AMPの認識様式を正確に解明した。校正部位を改変することによりアミノアシル化部位を非天然アミノ酸を認識するように変化した人工遺伝暗号系の構築が期待される。生存に必須なドメインのため阻害剤設計により抗生物質や抗癌剤の開発が期待できる。	
854	Valyl-tRNA Synthetase	CPI domain	1WKA	released	2005.6.28	バリン-tRNA合成酵素の校正(editing)反応を担うドメインの構造。校正部位を改変することによりアミノアシル化部位を非天然アミノ酸を認識するように変化した人工遺伝暗号系の構築が期待される。生存に必須なドメインのため阻害剤設計により抗生物質や抗癌剤の開発が期待できる。	
855	leucyl-tRNA synthetase		1WKB	released	2005.2.8	古細菌Pyrococcus horikoshii由来ロイシルtRNA合成酵素(LeuRS)とtRNA(Leu)の複合体構造。遺伝暗号表において、ロイシン、セリン、アルギニンは2コドンボックスにまたがり、6つのコドンが対応しており、それぞれアンチコドンの異なる複数のtRNAが存在している。LeuRSは、tRNA(Leu)に特徴的な長いバリアブルアームを認識することで、アンチコドンが異なる複数のtRNAを他のtRNAから識別している。LeuRSによるRNAの認識機構を解明することによりaaRSが触媒するアミノアシル化以外の機能が原子分解能で推定でき、構造生物学上極めて興味深い知見が得られると期待される。	
856	5-formyltetrahydrofolate cycloligase-related protein		1WKC	released	2004.12.1	5-formyltetrahydrofolate cycloligase に弱い配列相同性があり、構造解析により機能が推定できる可能性がある。	
857	Acetylornithine aminotransferase complexed with PLP-acetylornithine		1WKG	released	2005.9.27	オルニチン生合成のアセチル化経路上4段階目の反応を触媒し、各種微生物に存在する。N-アセチルオルニチンと3-オキソグルタル酸の間で可逆的にアミノ基転移反応を行う。ピタミンB6酵素のフォールドタイプIに属するダイマー酵素である。サブユニットはもう一方のサブユニットと接触するヘリックスをもつN末端ドメイン、大ドメイン( $\alpha/\beta$ 構造)、および小ドメイン( $\alpha/\beta$ 構造)からなる。アセチルオルニチンアナログとの複合体で、この基質の結合様式が判明した。	
858	Acetylornithine aminotransferase complexed with PLP-glutamate		1WKH	released	2005.9.27	オルニチン生合成のアセチル化経路上4段階目の反応を触媒し、各種微生物に存在する。N-アセチルオルニチンと3-オキソグルタル酸の間で可逆的にアミノ基転移反応を行う。ピタミンB6酵素のフォールドタイプIに属するダイマー酵素である。サブユニットはもう一方のサブユニットと接触するヘリックスをもつN末端ドメイン、大ドメイン( $\alpha/\beta$ 構造)、および小ドメイン( $\alpha/\beta$ 構造)からなる。アセチルオルニチンアナログとの複合体で、この基質の結合様式が判明した。	
859	nucleoside diphosphate kinase		1WKJ	released	2005.8.23	ADP, TDP, GDP, CDP との複合体、及び反応中間体のリン酸化酵素の構造解析を行うことにより、反応機能の解明が進んだ。NDP キナーゼはATP をリン酸供与体としてヌクレオシド二リン酸(NDP)よりヌクレオシド三リン酸(NTP)を合成する酵素であり、その産物であるNTPは核酸合成の基質となるだけでなく、糖質、脂質、タンパク質の合成にも利用される。ところが、NDPキナーゼをコードするヒト遺伝子nm23は、高転移性がん細胞に導入されると転移活性の抑制活性を示すことが知られている。基礎的代謝に関与するNM23/NDP キナーゼがどういうメカニズムでガンの転移と関連するのかが非常に興味深い。また、NM23/NDP キナーゼがヌクレアーゼ活性を示すという報告もあるが、転移抑制効果との直接的関連性は示されていない。さらに、原核生物のNDP キナーゼにもヌクレアーゼ活性の存在が確認された。NM23/NDP キナーゼで見られた2つの現象の関連性を含め、NDP キナーゼがDNAにどのように作用するかを解明する目的で、T. thermophilus HB8由来NDP キナーゼ遺伝子をクローニングし、タンパク質を精製した。精製標品のNDP キナーゼ活性を確認した後、結晶化を行い、分子置換法によってその立体構造を決定した。	
860	nucleoside diphosphate kinase (in complex with GDP)		1WKK	released	2005.8.23	ADP, TDP, GDP, CDP との複合体、及び反応中間体のリン酸化酵素の構造解析を行うことにより、反応機能の解明が進んだ。NDP キナーゼはATP をリン酸供与体としてヌクレオシド二リン酸(NDP)よりヌクレオシド三リン酸(NTP)を合成する酵素であり、その産物であるNTPは核酸合成の基質となるだけでなく、糖質、脂質、タンパク質の合成にも利用される。ところが、NDPキナーゼをコードするヒト遺伝子nm23は、高転移性がん細胞に導入されると転移活性の抑制活性を示すことが知られている。基礎的代謝に関与するNM23/NDP キナーゼがどういうメカニズムでガンの転移と関連するのかが非常に興味深い。また、NM23/NDP キナーゼがヌクレアーゼ活性を示すという報告もあるが、転移抑制効果との直接的関連性は示されていない。さらに、原核生物のNDP キナーゼにもヌクレアーゼ活性の存在が確認された。NM23/NDP キナーゼで見られた2つの現象の関連性を含め、NDP キナーゼがDNAにどのように作用するかを解明する目的で、T. thermophilus HB8由来NDP キナーゼ遺伝子をクローニングし、タンパク質を精製した。精製標品のNDPキナーゼ活性を確認した後、結晶化を行い、分子置換法によってその立体構造を決定した。	
861	NDP-kinase complexed with ADP		1WKL	released	2005.8.23	ADP, TDP, GDP, CDP との複合体、及び反応中間体のリン酸化酵素の構造解析を行うことにより、反応機能の解明が進んだ。NDP キナーゼはATP をリン酸供与体としてヌクレオシド二リン酸(NDP)よりヌクレオシド三リン酸(NTP)を合成する酵素であり、その産物であるNTPは核酸合成の基質となるだけでなく、糖質、脂質、タンパク質の合成にも利用される。ところが、NDPキナーゼをコードするヒト遺伝子nm23は、高転移性がん細胞に導入されると転移活性の抑制活性を示すことが知られている。基礎的代謝に関与するNM23/NDP キナーゼがどういうメカニズムでガンの転移と関連するのかが非常に興味深い。また、NM23/NDP キナーゼがヌクレアーゼ活性を示すという報告もあるが、転移抑制効果との直接的関連性は示されていない。さらに、原核生物のNDP キナーゼにもヌクレアーゼ活性の存在が確認された。NM23/NDP キナーゼで見られた2つの現象の関連性を含め、NDP キナーゼがDNAにどのように作用するかを解明する目的で、T. thermophilus HB8由来NDP キナーゼ遺伝子をクローニングし、タンパク質を精製した。精製標品のNDPキナーゼ活性を確認した後、結晶化を行い、分子置換法によってその立体構造を決定した。	
862	Class-I glutamine amidotransferase		1WL8	released	2005.8.16	解析した結果、構造中に珍しいスクシンイミド残基が見つかり、その生物学的意味を追求する予定である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
863	Phenylacetic acid degradation protein (PaaI)		1WLU	released	2005.7.5	フェニル酢酸の分解経路で働く酵素の1つPaaIの立体構造を解明した。この酵素を含むpaa遺伝子クラスターは脂肪酸のβ酸化で働く酵素群との類似性があり、推定基質のCoAとの複合体構造を決定したことにより、それぞれの経路で働く酵素の基質特異性や反応特異性を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。フェニル酢酸のような芳香族化合物しか利用できないような環境でも生きていけるような能力を細菌は備えている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
864	Phenylacetic acid degradation protein (PaaI)		1WLV	released	2005.7.5	フェニル酢酸の分解経路で働く酵素の1つPaaIの立体構造を解明した。この酵素を含むpaa遺伝子クラスターは脂肪酸のβ酸化で働く酵素群との類似性があり、推定基質のCoAとの複合体構造を決定したことにより、それぞれの経路で働く酵素の基質特異性や反応特異性を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。フェニル酢酸のような芳香族化合物しか利用できないような環境でも生きていけるような能力を細菌は備えている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
865	Phenylacetic acid degradation protein (PaaI)		1WM6	released	2005.7.5	フェニル酢酸の分解経路で働く酵素の1つPaaIの立体構造を解明した。この酵素を含むpaa遺伝子クラスターは脂肪酸のβ酸化で働く酵素群との類似性があり、推定基質のCoAとの複合体構造を決定したことにより、それぞれの経路で働く酵素の基質特異性や反応特異性を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。フェニル酢酸のような芳香族化合物しか利用できないような環境でも生きていけるような能力を細菌は備えている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
866	GTP cyclohydrolase I (FolE)		1WM9	released	2005.7.19	葉酸合成系の第一段階を担う酵素(GTPシクロヒドロラーゼI; GCH1)の立体構造を基質アナログとの複合体として解明。GTPを基質とし、ジヒドロネオプテリン三リン酸を産生するGCH1が、基質をどのように認識しているかを原子レベルの分解能で決定し、これまでの報告にはなかったアミノ酸残基の関与を明らかにした。また、それに基づき、従来とは異なる反応機構が推察できた。医学的にも重要なGCH1の活性調節機構についての理解を深め、医薬への波及効果が期待できる。GCH1は細菌から高等生物まで広く保存されており、好熱菌の酵素は大腸菌よりはヒト酵素との方が配列相同性が高い。生成物であるジドロネオプテリン(NH2)の利用経路は生物種によって異なり、細菌と植物では葉酸合成、高等生物ではテトラヒドロピオプテリン(tetrahydrobiopterin; BH4)合成となっている。BH4はチロシン、フェニルアラニン代謝やカテコールアミン合成経路の酵素の補酵素であり、その調節がGCH1によってなされることから、GCH1は脳内神経伝達物質に関わる病気(ジストニア、うつ病等)に関連する酵素として近年注目をあびている。また、葉酸は細菌の生育に必須な物質なので、その合成を阻害することによって細菌の増殖を防ぐような薬剤を、高分解能の原子構造をもとにして分子設計することが期待できる。	
867	UNC5H2	death domain	1WMG	released	2005.1.9	本解析タンパク質は軸索のNetrin-1 receptorであり、軸索を中心線から離す(repulsion)信号を伝える。最近tumor suppressorとして働いていることが示唆されている。解析したdeath domainは分子間相互作用に関わり、その信号が下流に伝わり、apoptosisを起こす。いくつかのガンでUNC5の発現がdownregulationされていることが示された。	
868	Unknown function DUF55 protein		1WMM	released	2005.8.23	本解析タンパク質は配列保存機能未知タンパク質であるが、構造を解析した結果、新規フォールディングであることが解った。	
869	geranylgeranyl diphosphate synthetase		1WMW	released	2005.7.21	イソプレノイドの生合成(炭素原子5個と水素原子8個からなるイソプレネン(C5H8)を鎖状につないでいろいろな長さの分子をつくる仕組み)を担う酵素(ゲラニルゲラニルニリン酸シントラーゼ)の立体構造を解明した。カロテノイドなどを合成するために必要な、4つのイソプレネンがつながってできるゲラニルゲラニルニリン酸(GGPP)を合成する機構を明らかにし、3つのイソプレネンをつなぐファルネシルニリン酸や11個をつなぐウンデカプレニルニリン酸との比較から、つなぐ長さに応じた酵素の仕組みを推察できた。決まった長さをもつイソプレノイドを合成する酵素の設計に役立てることができる。GGPP合成酵素の詳細な原子構造をもとに、イソプレネン単位の重合反応を一定の鎖長で正確に停止させ、それぞれ特有の化合物を作る人工酵素を設計することが可能となる。例えば、天然ゴムはイソプレネン単位が何千も重合してできた高分子であり、工業的に有用な酵素の開発に役立つものと期待される。ガン遺伝子の産物として知られるRasタンパク質など、細胞の分化、増殖の情報伝達に関する種々の重要タンパク質が、ファルネシル基(C15)やゲラニルゲラニル基(C20)などのイソプレノイド鎖と共有結合した形で機能を発揮するということが知られている。よって、イソプレノイド鎖の合成酵素の研究は、コレステロール代謝やガン化など医学的な面でも注目される。	
870	Dipeptidase from Pyrococcus Horikoshii OT3		1WN1	released	2005.8.9	超好熱菌Pyrococcus Horikoshii OT3由来のDipeptidaseとして推定されていた蛋白質をMAD法で分解能2.3Åで解析した。R因子は21.2%、Rfreeは24.8%であった。機能解析の結果、プロリンを第2残基に持つダイペプチドを切断するProlidaseの機能を有することが分かった。Prolidaseは蛋白質分解の最終ステージに寄与するもので、ヒトprolidaseの欠損及び変異型はskin lesion(皮膚障害)、mental retardation(知的障害)、recurrent infection(反復性感染)等の病因となる。産業的にはチーズの苦みを和らげるものとして重宝されている。分子量は約4万、水溶液中では2両体として存在することを確かめている。	
871	Peptidyl-tRNA hydrolase II		1WN2	released	2005.7.19	解析開始当初、機能未知蛋白質であったが、後に蛋白質合成時にフリーtRNAを再生する重要な酵素であることが判明した。	
872	Phenylacetic acid degradation protein (PaaI)		1WN3	released	2005.7.5	フェニル酢酸の分解経路で働く酵素の1つPaaIの立体構造を解明した。この酵素を含むpaa遺伝子クラスターは脂肪酸のβ酸化で働く酵素群との類似性があり、推定基質のCoAとの複合体構造を決定したことにより、それぞれの経路で働く酵素の基質特異性や反応特異性を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。フェニル酢酸のような芳香族化合物しか利用できないような環境でも生きていけるような能力を細菌は備えている。原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
873	hypothetical protein TT1805		1WN9	released	2005.1.28	機能未知タンパク質であるTT1805について、MAD法により2種類の結晶系の構造を1.58 Å以上の分解能で決定したところ、αヘリックスにより囲まれた5本のβシートからなっている構造であった。PDB内には似た構造が見出せず、新規の構造と考えられる。このタンパク質は非常によく結晶化するが、その理由を両結晶系の結晶中のパッキングの状況から推測することができた。	
874	conserved hypothetical protein TT1805		1WNA	released	2005.1.28	機能未知タンパク質であるTT1805について、MAD法により2種類の結晶系の構造を1.58 Å以上の分解能で決定したところ、αヘリックスにより囲まれた5本のβシートからなっている構造であった。PDB内には似た構造が見出せず、新規の構造と考えられる。このタンパク質は非常によく結晶化するが、その理由を両結晶系の結晶中のパッキングの状況から推測することができた。	
875	L-asparaginase		1WNF	released	2005.2.2	L-アスパラギナーゼは、L-アスパラギンをアスパラギン酸とアンモニアへの加水分解を触媒する酵素である。大腸菌のL-アスパラギナーゼは、L-アスパラギンを特異的に認識して加水分解し、抗白血病活性を持つことから、臨床的に急性リン芽球の白血病の治療に使用されている。PH0066の結晶構造を分子置換法により決定したところ、既に報告のある他のL-アスパラギナーゼの結晶構造がすべて4量体を形成しているのに対して、PH0066はダイマーを形成していた。	
876	Biotin protein ligase		1WNL	released	2005.8.15	脂質合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。	
877	Cpn10		1WNR	released	2004.12.7	Cpn10、Cpn60と複合体を形成し、タンパク質のフォールディングを助けるシャペロニンである。立体構造解析の結果、Cpn10は7量体のリング構造をとっており、その下端には非常にフレキシブルな長いループ領域が存在した。この領域はCpn60との結合領域に当たり、非結合状態では大きく揺らいでいるものと考えられる。	
878	Tt IleRSCP1+Val-2AA		1WNZ	on_hold		好熱細菌由来イソロイシルtRNA合成酵素の校正反応ドメインとpost-transfer校正反応基質アナログの複合体の結晶構造である。正確な遺伝暗号の翻訳に必須である校正反応における基質認識と触媒反応機構を解明するために重要となる。	
879	Methylglyoxal synthase		1W08	released	2005.8.23	Methylglyoxal synthaseは解糖系に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
880	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase		1WP4	released	2005.8.30	バリンの分解系で働く酵素(3-ヒドロキシブチル酸デヒドロゲナーゼ)の立体構造を解明。この酵素の立体構造を決定することにより、3-ヒドロキシブチル酸をメチルマロン酸セミアルデヒドに変換する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。アミノ酸はタンパク質を構成する材料というだけでなく、分解してエネルギーを得るための食物分子でもある。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
881	V-ATPase E subunit		1WPF	on_hold		v-ATPaseは液胞やゴルジ体などミトコンドリア以外の様々な細胞小器官に存在する膜蛋白質複合体で、ATPの駆動力を利用して小器官の機能に重要なプロトン勾配を保つ。Eサブユニットはこの複合体のプロトンポンプ部分とATPアーゼ部分をつなぐ働きをしており、今回初めてその立体構造が明らかになった。	
882	Biotin protein ligase		1WPY	released	2005.10.4	脂質合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はビオチン結合状態の構造である。	
883	Tyrosyl-tRNA synthetase		1WQ3	released	2005.1.25	非天然型アミノ酸および競合するアミノ酸と、それを認識するように人為的に改変した大腸菌由来チロシル-tRNA合成酵素との複合体構造。真核生物、特に哺乳動物細胞や酵母において非天然型アミノ酸を導入する重要な鍵となり、非天然のアミノ酸を認識させるように酵素を改変する上で有用な情報が得られる。さらに性質の優れた改変酵素を得るための情報が得られると期待される。	
884	Tyrosyl-tRNA synthetase		1WQ4	released	2005.1.25	非天然型アミノ酸オードチロシンと、それを認識するように人為的に改変した大腸菌由来チロシル-tRNA合成酵素との複合体構造。真核生物、特に哺乳動物細胞や酵母において非天然型アミノ酸を導入する重要な鍵となり、非天然のアミノ酸を認識させるように酵素を改変する上で有用な情報が得られる。さらに性質の優れた改変酵素を得るための情報が得られると期待される。	
885	tryptophan synthase-subunit		1WQ5	released	2005.2.15	大腸菌由来のトリプトファン合成酵素αサブユニットをMR法で2.3 Å分解能のX線結晶構造解析を行った。本蛋白質はone gene/one enzymeを証明した歴史的蛋白質で、最も早い時期から構造解析が試みられたが今日まで解析できなかったものである。トリプトファン合成酵素α及びβサブユニットの個々の機能は、αβ2複合体を形成することによって、2桁も高くなることが知られている。今回、αサブユニットの構造解析の結果、複合体形成に伴う活性増幅機能の構造的基盤を明らかにできた。	
886	Biotin protein ligase		1WQ7	released	2005.10.4	脂質合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はリガンド未結合状態の構造である。	
887	Biotin protein ligase		1WQW	released	2005.10.4	脂質合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造は反応中間体であるビオチニル5'AMP結合状態の構造である。	
888	Acetyl-CoA synthetase beta chain		1WR2	on_hold		脂質代謝に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
889	Haloacid dehalogenase family protein		1WR8	released	2004.10.26	本蛋白質は、ハロ酸脱ハロゲン化酵素ファミリーに属する機能未知酵素である。構造解析の結果、2-phosphoglycolate phosphatase である可能性が示唆された。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用できる。	
890	Branched-chain amino acid aminotransferase (BCAT)		1WRV	on_hold		BCATは生体中で分岐鎖アミノ酸の合成あるいはグルタミン酸の合成にかかわる重要な酵素である。BCAT、BCATと分岐鎖アミノ酸、BCATとグルタミン酸およびBCATとガバペンチン複合体の立体構造を決定した。BCATの反応物結合部位は小ドメインと大ドメインの間のくぼみにあって、その底にビタミンB6が触媒反応を活性化するために結合している。酵素は通常一種類の反応物を結合するが、この酵素の特徴は性質の異なる2種類の反応物、疎水性の分岐鎖アミノ酸と酸性のグルタミン酸を同じくくぼみに結合するという特徴を持つ。2種類の反応物との複合体の構造を決定し、反応物の結合の仕組みを明らかにすることができた。また、BCATは脳内でグルタミン酸の供給のために働いており、脳内の情報伝達に深くかかわっていることが知られている。ガバペンチンはBCATと結合して薬理活性を示す。ガバペンチンがどのようにBCATの活性部位に結合するかを明らかにした。H88由来のBCATの構造はヒト由来のBCATとよく似ていると考えられ、活性部位を構成するアミノ酸も両者でほとんど同じである。脳内でBCATはグルタミン酸の合成により情報伝達に深くかかわっている。BCATと結合するガバペンチンは精神障害や痙攣にたいする薬剤として海外で使用されているが、ガバペンチンには強い副作用がある。今回立体構造に基づいてガバペンチンのBCATに対する阻害機構が明らかになったので、BCATはより副作用の少ない薬剤や新しい精神障害に対する薬を開発するためのターゲットタンパク質として使用できる。分岐鎖アミノ酸は人間の体の中で合成することができない必須アミノ酸の一種である。分岐鎖アミノ酸合成系を持つ菌類はこの合成系を止めれば死に至る。一方人間は、分岐鎖アミノ酸を持っていない。したがって分岐鎖アミノ酸の合成をブロックする化合物は生体中で有効な抗菌剤、抗真菌剤機能する。分岐鎖アミノ酸合成系に属するBCATはこのような抗菌剤開発のためのターゲット酵素である。BCATの活性部位の構造に基づいて、この酵素に結合し酵素機能をブロックする薬剤をデザインできる可能性がある。	
891	Acyl-CoA dehydrogenase		1WS9	on_hold		Acyl-CoA dehydrogenaseは脂肪酸のベータ酸化に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
892	RecAタンパク質		1WSN	on_hold		RecA蛋白質は、単鎖DNAと二重鎖DNAの間の塩基配列の相同性を探索し、相同部位を対させた上で、DNA鎖を交換してDNA相同組換えを進行させる。本解析により単鎖および二重鎖DNAと相互作用する2つのループ領域の構造を初めて明らかにした。相同組換えはあらゆる生命体に普遍的に見いだされ、それぞれの進化と遺伝情報の維持に関係している。	
893	probable nucleotidyltransferase protein		1WTY	released	2004.12.7	他の生物種でも保存されている機能未知蛋白質なので、新たな機能を持った蛋白質の発見につながると期待できる。	
894	Molybdopterin biosynthesis moeA protein		1WU2	released	2004.12.7	モリブドプテリン生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
895	DUF62 unknown function protein		1WU8	on_hold		新規フォールディングである。	
896	conserved hypothetical protein (TT1927B)		1WUB (replaced IUF6)	released	2004.12.21	TT1927bは機能未知タンパク質であり、配列類似タンパク質は原核生物に広く見出される。我々はこのタンパク質の結晶構造を1.65 Åの分解能で決定した。8本のβ鎖からなるバレル構造をとっていて、バレルの中にイソプレノイドの長い鎖構造をとる電子密度が見えていた。配列類似タンパク質の多くはゲノム上、すぐ隣にcytochrome bがあることが多い。これらのことからこのタンパク質はイソプレノイドを基質とし、エネルギー産生に直接あるいは間接的にかかわっている可能性が推測される。	
897	GTP cyclohydrolase I (FolE)		1WUQ	released	2005.7.19	本酵素はGTPを基質としてジヒドロネオプテリン3リン酸を生成する酵素であり、ヒトでは脳内神経伝達に関わる病気(ジストニア、うつ病など)に関連する。基質アナログ複合体の構造解析からその反応機構の解明が進むと期待される。	
898	GTP cyclohydrolase I (FolE)		1WUR	released	2005.7.19	本酵素はGTPを基質としてジヒドロネオプテリン3リン酸を生成する酵素であり、ヒトでは脳内神経伝達に関わる病気(ジストニア、うつ病など)に関連する。基質アナログ複合体の構造解析からその反応機構の解明が進むと期待される。	
899	Rap2 interacting protein x	RUN domain	1WUS	released	2005.6.8	全長タンパク質はRap2のエファクターと予測される機能未知蛋白質(Rap2 interacting protein x)。RUNドメインは、RPIP8、UNC-14、NESCAなどシグナル伝達に関わる蛋白質に存在し、蛋白質間相互作用に重要な役割を持つことが明らかにされている。構造上の特性としては、7つのアルファヘリックスからなるbundle構造をとる。5番目のアルファヘリックス上に塩基性残基が集まり、分子表面に正の電荷を与えている。	
900	nonconserved hypothetical protein		1WV8	released	2005.6.12	本解析タンパク質は機能未知だが、結晶構造からダイマーで機能すると考えられる。	
901	Rhodanese homolog, unknown function		1WV9	released	2005.6.19	本解析タンパク質はローダネーゼの硫黄転移酵素であると考えられる。rhodanese homology domainを有し、Cys60が活性中心と考えられる。	
902	myoglobin		1WVP	released	2005.1.18	ミオグロビン中の遠位ヒスチジンを化学修飾した状態での構造解析である。	
903	T. maritima tRNase Z		1WW1	released	2005.2.22	T. maritima tRNase Z単体の構造である。tRNA成熟化の一端を明らかにするための情報が得られると期待される。ヒトのホモログは前立腺癌の原因遺伝子の一つと考えられているが、RNase活性との関連は認められていない。	
904	Malate oxidoreductase		1WWS	on_hold		リンゴ酸酵素は光合成や脂質生合成に関わるNAD(P)依存性酸化還元酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。NADとの複合体の構造も得られたため補酵素の結合に関する議論が可能である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
905	NUP53 (yeast Nup53p mouse homolog)	MPPN domain	1WWH	released	2005.7.5	本解析タンパク質はnuclear pore complex (NPC)を構成するnucleoporinの一つである。核と細胞質の間の物質の輸送をつかさどる。本解析ドメインは、Nup96pと結合する領域に含まれる。RRM(RNA recognition motif, RNA binding domain)と非常に類似した立体構造をとっている。	
906	conserved hypothetical protein		1WWI	released	2005.7.5	一つの分子チェーンに2つのヒストンフォールドモチーフの存在が確認された。TT1566の結晶構造は、2つの異なる空間群C2221 (PDBid 1WWI) とP21 (PDBid 1WWS) で決定された。空間群C2221の非対称ユニットには1個の分子が、P21の非対称ユニットには4つの二量体を形成している8個の分子が確認された。本解析タンパク質は配列保存機能未知タンパク質であるが、構造の解明が機能の解明に手がかりを与える可能性がある。	
907	Phosphoglycerate dehydrogenase		1WWK	on_hold		セリン生成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。特徴的な4量体を形成し、酵素機能との関係に興味を持たれる。	
908	putative transcription activator		1WWM	released	2005.7.7	TenA/Thi-4 family に属するputative transcription activatorである。αヘリックスのみから形成されている。	
909	conserved hypothetical protein		1WWP	released	2005.7.12	このタンパク質は、ヌクレオチド転移酵素であると考えられる。	
910	TadA		1WWR	released	2005.2.1	本解析タンパク質はデアミナーゼである。	
911	conserved hypothetical protein TT1566		1WWS	on_hold		一つの分子チェーンに2つのヒストンフォールドモチーフの存在が確認された。TT1566の結晶構造は、2つの異なる空間群C2221 (PDBid 1WWI) とP21 (PDBid 1WWS) で決定された。空間群C2221の非対称ユニットには1個の分子が、P21の非対称ユニットには4つの二量体を形成している8個の分子が確認された。本解析タンパク質は配列保存機能未知タンパク質であるが、構造の解明が機能の解明に手がかりを与える可能性がある。	
912	N-Acetyltransferase family protein		1WWZ	released	2005.2.1	この蛋白質は蛋白質やその他の生理活性物質のN-アセチル化を触媒する酵素であり、ヒトを含め多くの生物種に存在する。	
913	Transaldolase		1WX0	released	2005.2.1	Transaldolaseはペントースリン酸回路に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。特徴的な10量体を形成し、酵素機能との関係に興味を持たれる。	
914	Nictinate-nucleotide-dimethylbenzimidazole phosphoribosyltransferase		1WX1	released	2005.2.1	コバラミン生成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。今回は結晶系違いの構造を決定し、2量体構造の可変性と機能の関係について議論する。	
915	Shikimate 5-dehydrogenase		1WXD	released	2005.2.1	本解析タンパク質は必須芳香族アミノ酸の生成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
916	Tryptophan synthase alpha subunit		1WXJ	released	2005.2.1	必須アミノ酸であるトリプトファン(tryptophan)の生成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。今回はリガンドであるIndole-3-propanol phosphateとの複合体の構造を決定したので、反応機構に関する議論が可能である。	
917	GTP binding protein		1WXQ	on_hold		配列からGTPを結合することが予想される立体構造未知蛋白質である。GTP結合蛋白質は細胞内でシグナル伝達、タンパク質輸送、細胞周期などのスイッチとして働くため、その構造決定は重要である。	
918	putative SAM-dependent methyltransferase		1WXW	released	2005.8.2	SAH結合型の構造中に於いてSAH/SAM補助因子結合部位を直接確認できる。SAM結合部位は Asn265, Asp238, Phe217, Pro288, Asp286, Arg202から形成されている。基質のRNAは大きくて深い溝に結合するようである。溝の基部は中心部868~194残基目)で形成され、側部はSAM結合部位であるC末端部(195~382残基目)とN末端部(1~64残基目)から形成されている。Cys326は6番目の炭素原子にattackする活性部位らしい。本構造は単体をC2結晶系で解いた物であり、解像度は2.55Åである。	
919	conserved hypothetical protein		1WXX	released	2005.8.2	SAH結合型の構造中に於いてSAH/SAM補助因子結合部位を直接確認できる。SAM結合部位は Asn265, Asp238, Phe217, Pro288, Asp286, Arg202から形成されている。基質のRNAは大きくて深い溝に結合するようである。溝の基部は中心部868~194残基目)で形成され、側部はSAM結合部位であるC末端部(195~382残基目)とN末端部(1~64残基目)から形成されている。Cys326は6番目の炭素原子にattackする活性部位らしい。本構造は単体をP1結晶系で解いた物であり、1.80Åの解像度である。	
920	Geranylgeranyl pyrophosphate synthetase		1WY0	on_hold		イソプレノイド生成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
921	Cobalamin adenosyltransferase like protein		1WY1	released	2005.2.22	コバラミン生成に関わる酵素である cobalamin adenosyltransferase と同源性がある。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用できる。	
922	X-Pro dipeptidase		1WY2	released	2005.2.22	プロリンを含む配列に特異性のあるプロテアーゼであり、耐熱性酵素として利用できる。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
923	isoleucyl-tRNA lysidine synthetase		1WY5	released	2005.5.3	Aquifex aeolicusのライシジン合成酵素 (Ti1S) の結晶構造を2.42Åの解像度で解析した。ライシジンは側鎖に持つシジンの誘導体で、真正細菌のイソロイシントRNAのwobble positionに特異的に存在し、AUAコドンの翻訳には必須であることが知られている。Ti1Sはホモダイマーを形成し、各サブユニットは特徴的なcentral holeをもつN-terminal dinucleotide-binding fold domain (NTD) と、長いαヘリックスリンカーに繋がれたC-terminal globular domain (CTD) とで構成されていた。NTDはGMP合成酵素のATP-pyrophosphataseドメインに顕著な構造類似性を持ち、Ti1Sによる二段階の反応を連想させる。さらに変異体の解析から、A. aeolicus由来Ti1SはtRNA acceptor stemを認識しないがアンチコドンのC29からG41の塩基対を認識することが解り、A. aeolicus由来Ti1Sが大腸菌由来のTi1Sとは異なった方法で(イソロイシントRNAによく似た)メチオニンtRNAからイソロイシントRNAを見分けていることを解明するのに貢献した。	
924	glycine dehydrogenase		1WYT	released	2005.4.5	本解析ターゲットはグリシン開裂系の第一段階の脱炭酸反応を触媒する酵素であり、細菌から動植物まで広く存在する。構造解析によりαβヘテロダイマーが2つ合わさったテトラマーを形成していることがわかった。	
925	glycine dehydrogenase		1WYU	released	2005.4.5	本解析ターゲットはグリシン開裂系の第一段階の脱炭酸反応を触媒する酵素であり、細菌から動植物まで広く存在する。補酵素であるPLPが結合することにより、openからclosedへの大きなコンホメーション変化が起こることがわかった。	
926	glycine dehydrogenase		1WYV	released	2005.4.5	本解析ターゲットはグリシン開裂系の第一段階の脱炭酸反応を触媒する酵素であり、細菌から動植物まで広く存在する。阻害剤であるaminoxy-acetic acidとの複合体構造から、基質認識機構を解明した。	
927	SUMO1-conjugated thymine DNA glycosylase		1WYW	released	2005.6.21	SUMO-1が結合したヒト由来TDGの結晶構造を2.1Åの分解能で解析した。small ubiquitin-like modifier (SUMO)ファミリーに属するタンパク質は、ユビキチン付加の際と同様の経路で標的タンパク質のリジン残基に共有結合し、プロテオソームやリソソームのタンパク質分解シグナルに依らない様々な細胞内の現象に関与する。DNA修復の際には、uracil/thymine DNA glycosylase TDGへSUMOが付加することで、DNA修復の過程で生じたAP site (塩基除去箇所)からのTDGの乖離を促進し、次のステップへの移動するよう調整する。しかし、そのメカニズムは殆ど解明されていなかった。構造解析の結果、産物のDNAと相互作用しTDGのDNAからの乖離を促進するだろうと考えられる、タンパク表面から突出したヘリックスが見出された。このヘリックスはTDGとSUMO-1の共有結合および非共有結合で形成されている。非共有結合はDNA産物の放出に必須であると変異体の解析から立証された。	
928	Leucyl-tRNA synthetase-tRNA complex		1WZ2	released	2005.9.6	好熱古細菌由来ロイシルtRNA合成酵素とtRNA <sup>Leu</sup> の複合体の結晶構造である。遺伝暗号の翻訳に必須であるLeuRSのtRNA認識機構や反応機構を解明するために重要となる。	
929	ER(enhancer of rudimentary gene)		1WZ7	released	2005.5.3	enhancer of rudimentary (ER)は、ハエにおいて、羽が矮小化する変異に関わる遺伝子であり、また、ヒト、マウスと100%同一のアミノ酸配列のカエルのERタンパク質は、他のタンパク質と相互作用して、転写抑制因子として働く、脊椎動物、無脊椎動物、植物において高度に保存されたタンパク質である。	
930	Enoyl-CoA dehydratase		1WZ8	released	2005.3.15	Enoyl-CoA dehydrataseは脂肪酸のベータ酸化に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
931	SAM-dependent methyltransferase		1WZN	on_hold		S-アデノシルメチオニンを利用して様々な物質をメチル化する酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。特徴的な6量体を形成し、酵素機能との関係に興味を持たれる。	
932	Fumarylacetoacetate hydrolase family protein		1WZO	on_hold		この解析ターゲットはFumarylacetoacetate hydrolase family proteinでチロシン代謝に関わるFAA hydrolaseと相同性がある。FAA hydrolase機能の欠如はヒトの遺伝病であるTypeI tyrosinemiaの原因となる。	
933	Biotin protein ligase		1X01	on_hold		脂質合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はATP結合状態の構造である。	
934	Malate/lactate dehydrogenase		1X0A	on_hold	2005.3.16	リンゴ酸酵素は光合成や脂質合成に関わるNAD(P)依存性酸化還元酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。NADとの複合体の構造も得られたため補酵素の結合に関する議論が可能である。	
935	RING3/Brd2-BD1	bromodomain	1X0J	on_hold		アセチル化ヒストンに結合し、転写を活性化するタンパク質である。ヒストンのアセチル化リジン残基を認識する。てんかんの原因遺伝子の1種と推定されている。構造を解析した結果、4つのαヘリックスを持ち、そのαヘリックスが束のように集まっていた。結晶内では、二量体を形成していた。ヒストンのテイル領域に結合すると思われる溝状のクレフトを見いだしている。	
936	Short-chain alcohol dehydrogenase family protein		1X1E	on_hold		Short-chain alcohol dehydrogenase family proteinはNADを補酵素として様々なアルコールを酸化する酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。NADとの複合体の構造も得られたため補酵素の結合に関する議論が可能である。	
937	Quinolinic acid phosphoribosyltransferase		1X10	on_hold		Quinolinic acid phosphoribosyltransferaseは微生物にとって必要なNAD合成に関わる酵素であり、抗菌剤のターゲットとなる。	
938	Tryptophan synthase beta cahn		1X1Q	on_hold		このタンパク質は必須アミノ酸であるトリプトファンの生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
939	Keap1(Kelch-like ECH-associating protein 1)	Kelch/DGR domain	1X2J	on_hold		全長タンパク質Keap1は Nrf2 転写因子を調節するアダプタータンパク質である。解析した Kelch/DGRドメインはNrf2 転写因子を認識する。本タンパク質は 細胞の癌化に関与すると考えられている。シリンダー/ディスクの形をしており、擬6回軸を持つ6-bladed b-propeller構造に類似した、直列型で湾曲した4本の逆平行βシートを、計6個持つ構造をしていた。	
940	Keap1(Kelch-like ECH-associating protein 1) complex	Kelch/DGR domain	1X2R	on_hold		全長タンパク質Keap1は Nrf2 転写因子を調節するアダプタータンパク質である。解析したKelch/DGRドメインはNrf2転写因子を認識する。本タンパク質は 細胞の癌化に関与すると考えられている。こちらは、Neh1ペプチドとの複合体の構造である。シリンダー/ディスクの形をしており、擬6回軸を持つ6-bladed b-propeller構造に類似した、直列型で湾曲した4本の逆平行βシートを、計6個持つ構造をしていた。 Neh2ペプチドとの複合体解析の結果、Neh2ペプチドはKeap1-DCの底辺部に存在するアルギニンを中心とした強い塩基性領域に結合しており、Neh2ペプチドとの結合に必要なアミノ酸残基を明らかにした。	
941	Putative glycerate kinase		1X3L	on_hold		セリン生合成に関わる酵素である glycerate kinase と相同性がある。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用でき、構造が明らかになることで機能解析へ大きな知見を与え得る。	
942	Acyl carrier protein		1X30	on_hold		Acyl carrier proteinは脂質生合成に関わるキャリア蛋白質であり、耐熱性酵素として利用できる。	
943	RING3/Brd2-BD1 + H4peptide 3	bromodomain	1X3R	on_hold		アセチル化ヒストンに結合し、転写を活性化するタンパク質である。ヒストンのアセチル化リジン残基を認識する。てんかんの原因遺伝子の1種と推定されている。構造は4つのαヘリックスをもち、そのαヘリックスが東のように集まっていた。結晶内では、二量体を形成していた。peptide1および2とは長さが異なる。12番目のリジンをアセチル化したH4 peptideを用いて構造解析を行った。これの解析結果から、RING3/Brd2-BD1をヒストンH4との結合状態および認識部位を構造学的に明らかにした。	
944	RAB18, member RAS oncogene family	GTPase domain	1X3S	on_hold		このタンパク質は、GTP結合型とGDP結合型の2つの構造をとることにより、細胞膜内輸送において分子スイッチとして機能する。低分子量GTP結合タンパク質であるRasの構造に類似している。	
945	RING3/Brd2-BD1 + H4peptide 1	bromodomain	1X3T	on_hold		アセチル化ヒストンに結合し、転写を活性化するタンパク質である。ヒストンのアセチル化リジン残基を認識する。てんかんの原因遺伝子の1種と推定されている。構造は4つのαヘリックスをもち、そのαヘリックスが東のように集まっていた。結晶内では、二量体を形成していた。溝状のクレフトにヒストン12番目のリジンをアセチル化したH4 peptideが結合していた。	
946	RING3/Brd2-BD1 + H4peptide 2	bromodomain	1X3Y	on_hold		アセチル化ヒストンに結合し、転写を活性化するタンパク質である。ヒストンのアセチル化リジン残基を認識する。てんかんの原因遺伝子の1種と推定されている。構造を解析した結果、4つのαヘリックスをもち、そのαヘリックスが東のように集まっていた。結晶内では、二量体を形成していた。溝状のクレフトにヒストン5番目と12番目のリジンをアセチル化したH4 peptide が結合していたが、5番目をアセチル化したリジンは、アセチル化していないものよりも、結合力は落ちているものと考えられた。	
947	putative 2-haloalkanoic acid dehalogenase		1X42	on_hold		アミノ酸配列の相同性より、ハロゲン化炭化水素類を脱ハロゲン化する加水分解反応を触媒するhaloacid dehalogenase酵素の類縁の酵素であると考えられているタンパク質であり、今回の構造解析により、より詳細な機能に関する手がかりが得られると考えられる。haloacid dehalogenase superfamily に特徴的なフォールディングをしていた。	
948	AsnRS+Asn-AMP		1X54	on_hold		好熱古細菌由来アスパラギニルtRNA合成酵素と反応中間産物との複合体の結晶構造。AsnRSの基質認識機構を解明するために重要。	
949	AsnRS+Asn-SA		1X55	on_hold		好熱古細菌由来アスパラギニルtRNA合成酵素と反応中間産物アナログとの複合体の結晶構造。AsnRSの基質認識機構を解明するために重要。	
950	AsnRS		1X56	on_hold		好熱古細菌由来アスパラギニルtRNA合成酵素の結晶構造。AsnRSの基質認識機構を解明するために重要である。	
951	Tyrosyl-tRNA synthetase complexed with Tyr-AMS		1X8X	released	2005. 1. 25	大腸菌チロシル-tRNA合成酵素と、反応中間体との複合体構造。真核生物、特に哺乳動物細胞や酵母において非天然型アミノ酸を導入する重要な鍵となり、非天然のアミノ酸を認識させるように酵素を改変する上で有用な情報が得られる。さらに性質の優れた改変酵素を得るための情報が得られると期待される。	
952	ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinase		1XKV	released	2005. 10. 11	糖新生の律速酵素であるATP依存性ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PPCK) の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、ATPでオキサロ酢酸をリン酸化する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。細胞内に貯蔵してある多糖が枯渇した場合、解糖の逆反応で糖以外の前駆体からグルコースを合成する(糖新生)。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して飢餓状態にある細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
953	Other	PIN domain	1YE5	released	2005. 5. 17	本解析タンパク質は、PINドメインに結合するタンパク質である。	
954	4-diphosphocytidyl-2C-methyl-D-erythritol synthase (IspD)		1YE7	on_hold		脂質イソプレノイドは多くの生化学反応に関係する分子であり、生体膜の構成物質である。イソプレノイドの生合成は、哺乳類、高等植物等ではメバロン酸経路で、多くのバクテリアでは非メバロン酸経路で作られる。本酵素は、非メバロン酸経路の第3番目の反応(2-C-メチル-D-エリスリトール 4-リン酸とCTPから4-ジホスホシチジル-2-C-メチル-D-エリスリトールを合成する反応)を触媒する。今回の立体構造は、当該反応機構を理解する上で非常に有用であり、非メバロン酸経路をブロックする抗菌剤設計を提示できる可能性がある。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
955	probable flavoprotein		1Y0A	released	2005.7.27	本酵素は、既に構造解析がなされている鉄還元酵素(1I0S)やフラビン還元酵素(1RZ1)との構造類似性が高い。構造解析及びMSの結果から、1モノマー辺り2分子のFADが結合することが分かった。これは、既に構造解析されている、1I0Sや1RZ1とは大きく異なっており、全く新しい活性を持った酵素であると考えられる。	
956	Triosephosphate isomerase		1YYA	released	2005.3.15	Triosephosphate isomeraseは解糖系に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
957	conserved hypothetical protein TT1821		1Z54	released	2005.9.17	チオエステラーゼのファミリーに属する機能未知タンパク質であり、ArcheaとBacteriaでよく保存されているファミリーである。このファミリーには長鎖アシルCoAチオエステルを分解する酵素も含まれるが、TT1821の基質については、明らかにはなっていない。molecular replacement法で構造を解析した結果、非対称ユニットに4分子が認められた。これは2つの二量体が相互作用して形成している四量体かもしれない。構造は主に二量体をつくるのに相互作用している平行βストランドから成り、2つのダイマーがヘリックスの相互作用によって四量体を形成しているようだ。	
958	Haloacid dehalogenase family protein		1ZJJ	on_hold		本蛋白質は、ハロ酸脱ハロゲン化酵素ファミリーに属する機能未知酵素である。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用できる。	
959	hypothetical protein		1ZPW	on_hold		Pfamの分類でDUF196というDNA複製に関わると推測されている機能未知タンパク質ファミリーに属するタンパク質であり、ArcheaとBacteriaで保存されている。このファミリーの中では初めての構造である。非対称ユニットに1分子が認められたが、結晶パッキングでは二量体を形成するかのように分子が近接していた。構造はC末端に長いループを持ったα/βフォルドである。	
960	Tth G6P isomerase		1ZZG	on_hold		解糖系の酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。サイトカインとしても働くことが知られている。また、癌転移に関与している。	
961	Thermus thermophilus RNA polymerase		2A68	released	2005.9.20	本構造解析によって、RNAポリメラーゼの活性を阻害する抗生物質；rifabutinの作用機構が明らかになった。本構造解析の情報から、より強力な、rifabutinの誘導体をデザインできる可能性がある。	
962	Thermus thermophilus RNA polymerase		2A69	released	2005.9.20	本構造解析によって、RNAポリメラーゼの活性を阻害する抗生物質；rifapentinの作用機構が明らかになった。本構造解析の情報から、より強力な、rifapentinの誘導体をデザインできる可能性がある。	
963	Thermus thermophilus RNA polymerase		2A6E	released	2005.9.20	以前に報告したThermus thermophilus由来のRNAポリメラーゼの構造と比較した結果、今回の構造では、ブリッジヘリックスと呼ばれる部分の構造が異なっていた。このことはブリッジヘリックスが構造変化し得ることを示唆しており、RNAポリメラーゼの活性メカニズムを考える際の有用な知見である。	
964	Thermus thermophilus RNA polymerase		2A6H	released	2005.9.20	本構造解析によって、RNAポリメラーゼの活性を阻害する抗生物質；streptolydiginの作用機構が明らかになった。本構造解析の情報から、より強力な、streptolydiginの誘導体をデザインできる可能性がある。	
965	Ph nickel responsive regulator (in open conformation and nickel bound to high-affinity sites)		2BJ1	released	2005.4.8	NikRタンパク質は、ABC輸送体を介したニッケルの流れを調整することで、ニッケルの濃度を制御している。高ニッケル濃度の環境では、NikRはプロモーター領域に結合し、ニッケル輸送に関係する遺伝子の発現を抑制することで濃度の調整をしている。我々は、アポ型Ph NikR (PhNikR-apo) 及び2つのニッケルが結合した型 (PhNikR-Ni-1 PhNikR-Ni-2) の結晶化及び構造解析に成功した。PhNikR-apo分子は、二量体のDNA結合ドメインが側面に並んでいる、中心四量体のドメインからなるホモ四量体である。「低親和性」ニッケル結合ポケットが、ニッケル結合型の1つで特定された。PhNikR構造解析により、ニッケル依存のプロモーター認識機構の詳細が明らかとなった。本構造は高親和性ニッケル結合ポケットにニッケルが結合した型で、開いたコンフォメーションをとっている。	
966	Ph nickel responsive regulator (apo)		2BJ3	released	2005.4.8	NikRタンパク質は、ABC輸送体を介したニッケルの流れを調整することで、ニッケルの濃度を制御している。高ニッケル濃度の環境では、NikRはプロモーター領域に結合し、ニッケル輸送に関係する遺伝子の発現を抑制することで濃度の調整をしている。我々は、アポ型Ph NikR (PhNikR-apo) 及び2つのニッケルが結合した型 (PhNikR-Ni-1 PhNikR-Ni-2) の結晶化及び構造解析に成功した。PhNikR-apo分子は、二量体のDNA結合ドメインが側面に並んでいる、中心四量体のドメインからなるホモ四量体である。「低親和性」ニッケル結合ポケットが、ニッケル結合型の1つで特定された。PhNikR構造解析により、ニッケル依存のプロモーター認識機構の詳細が明らかとなった。本構造はapo型である。	
967	Ph nickel responsive regulator (in closed conformation and nickel bound to high-affinity sites)		2BJ7	released	2005.4.8	NikRタンパク質は、ABC輸送体を介したニッケルの流れを調整することで、ニッケルの濃度を制御している。高ニッケル濃度の環境では、NikRはプロモーター領域に結合し、ニッケル輸送に関係する遺伝子の発現を抑制することで濃度の調整をしている。我々は、アポ型Ph NikR (PhNikR-apo) 及び2つのニッケルが結合した型 (PhNikR-Ni-1 PhNikR-Ni-2) の結晶化及び構造解析に成功した。PhNikR-apo分子は、二量体のDNA結合ドメインが側面に並んでいる、中心四量体のドメインからなるホモ四量体である。「低親和性」ニッケル結合ポケットが、ニッケル結合型の1つで特定された。PhNikR構造解析により、ニッケル依存のプロモーター認識機構の詳細が明らかとなった。本構造は高親和性ニッケル結合ポケットにニッケルが結合した型で、閉じたコンフォメーションをとっている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
968	Ph nickel responsive regulator (in closed conformation and nickel bound to high and low-affinity sites)		2BJ8	released	2005. 4. 8	NikRタンパク質は、ABC輸送体を介したニッケルの流れを調整することで、ニッケルの濃度を制御している。高ニッケル濃度の環境では、NikRはプロモーター領域に結合し、ニッケル輸送に関係する遺伝子の発現を抑制することで濃度の調整をしている。我々は、アポ型Ph NikR (PhNikR-apo) 及び2つのニッケルが結合した型 (PhNikR-Ni-1 PhNikR-Ni-2) の結晶化及び構造解析に成功した。PhNikR-apo分子は、二量体のDNA結合ドメインが側面に並んでいる、中心四量体のドメインからなるホモ四量体である。「低親和性」ニッケル結合ポケットが、ニッケル結合型の1つで特定された。PhNikR構造解析により、ニッケル依存のプロモーター認識機構の詳細が明らかとなった。本構造は高親和性・低親和性の両ニッケル結合ポケットにニッケルが結合した型で、閉じたコンフォメーションをとっている。	
969	Ph nickel responsive regulator (with bound nickel and phosphate)		2BJ9	released	2005. 4. 8	NikRタンパク質は、ABC輸送体を介したニッケルの流れを調整することで、ニッケルの濃度を制御している。高ニッケル濃度の環境では、NikRはプロモーター領域に結合し、ニッケル輸送に関係する遺伝子の発現を抑制することで濃度の調整をしている。我々は、アポ型Ph NikR (PhNikR-apo) 及び2つのニッケルが結合した型 (PhNikR-Ni-1 PhNikR-Ni-2) の結晶化及び構造解析に成功した。PhNikR-apo分子は、二量体のDNA結合ドメインが側面に並んでいる、中心四量体のドメインからなるホモ四量体である。「低親和性」ニッケル結合ポケットが、ニッケル結合型の1つで特定された。PhNikR構造解析により、ニッケル依存のプロモーター認識機構の詳細が明らかとなった。本構造はニッケルとリン酸が結合した型である。	
970	leucyl-tRNA synthetase (complexed with a tRNA <sup>leu</sup> transcript in the post-editing conformation and a post-transfer editing substrate analogue)		2BTE	released	2005. 9. 15	ロイシルtRNA合成酵素とtRNAとの複合体の結晶構造。正確な遺伝暗号の翻訳に必須である校正反応のメカニズムを解明するために重要。	
971	leucyl-tRNA synthetase (complexed with a tRNA <sup>leu</sup> transcript in the post-editing conformation)		2BYT	released	2005. 9. 15	ロイシルtRNA合成酵素とtRNAとの複合体の結晶構造。正確な遺伝暗号の翻訳に必須である校正反応のメカニズムを解明するために重要。	
972	HD superfamily protein		2CQZ	on_hold		本蛋白質は、HDスーパーファミリーに属する機能未知酵素である。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用でき、構造が明らかになることで機能解明へ大きな知見を与え得る。	
973	probable initiation translation inhibitor (YabJ) (P212121)		2CSL	on_hold		Thermus thermophilus由来の本解析タンパク質は一本鎖RNAのエンドリボヌクレアーゼ活性を持つ、mRNAに切れ目を生じさせてタンパク質合成を阻害する。以前はタンパク質合成の開始を阻害すると考えられていた。このタンパク質はプリン合成の制御にも関与している可能性がある。構造的には、主な2次構造のエレメントは4本の逆平行βストランドと1本の平行βストランドからなるシート構造および2本の平行にアレンジされたαヘリックスである。これらβシートとαヘリックスが向かい合って配置され、内部に疎水性コアを形成している。αヘリックス側の表面は塩基性、酸性アミノ酸が数多く見られ極性の高い表面となっている。空間群P212121の非対称ユニットでは2つの3量体を形成している6分子を確認する事ができた。	
974	Acetyl-CoA synthetase alpha chain		2CSU	on_hold		本解析タンパク質は、脂質代謝に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
975	methionyl-tRNA synthetase complexed with tRNA (Met)		2CSX	released	2005. 9. 20	タンパク質合成が規則正しく行われるには、ある特定のアミノ酸が、対応するtRNAと正しく結び付くことが極めて重要であり、その役割を担うのがアミノアシルtRNA合成酵素とよばれる一連の酵素群である。今回はその一種であるメチオニンtRNA合成酵素 (MetRS) とtRNA (Met) との複合体の結晶構造を2.7 Åの分解能で解析した。これまでに、tRNA (Met) の特異性が認識されるにはアンチコドンのC34が第一に、次にA35とU36が重要であるとわかってきたが、今回の構造のtRNAのアンチコドンループはA38、A35、C34の3塩基が重なるような形に歪んでおり、MetRSのTrp42のインドール環がその塩基の重なっている部分にかぶさっていた。さらに、C34はArg357と水素結合していた。これまで、MetRSがどのようにtRNA (Met) をアミノアシル化するかは、高解像度のMetRSとtRNA (Met) の複合体が得られていないため不明だったが、今回得られた構造からその長年の疑問が解明されると考えられる。	
976	methionyl-tRNA synthetase complexed with tRNA (Met) and methionyl-adenylate analogue		2CT8	released	2005. 9. 20	タンパク質合成が規則正しく行われるには、ある特定のアミノ酸が、対応するtRNAと正しく結び付くことが極めて重要であり、その役割を担うのがアミノアシルtRNA合成酵素とよばれる一連の酵素群である。今回はその一種であるメチオニンtRNA合成酵素 (MetRS) とtRNA (Met) との複合体の結晶構造を2.7 Åの分解能で解析した。これまでに、tRNA (Met) の特異性が認識されるにはアンチコドンのC34が第一に、次にA35とU36が重要であるとわかってきたが、今回の構造のtRNAのアンチコドンループはA38、A35、C34の3塩基が重なるような形に歪んでおり、MetRSのTrp42のインドール環がその塩基の重なっている部分にかぶさっていた。さらに、C34はArg357と水素結合していた。これまで、MetRSがどのようにtRNA (Met) をアミノアシル化するかは、高解像度のMetRSとtRNA (Met) の複合体が得られていないため不明だったが、今回得られた構造からその長年の疑問が解明されると考えられる。	
977	gankyrin + S6ATPase		2CTY	on_hold		ユビキチン化されたタンパク質をATP依存に分解する26Sプロテアソームを制御するサブユニットおよびATP依存に分解する26Sプロテアソームドメインとの複合体である。構造はβ-hairpin-α-hairpinリピートフォールドであり、Ankyrin repeat familyに属する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
978	O-acetylhomoserine sulfhydrylase		2CTZ	on_hold		本酵素はメチオニンの生合成に必須であり、O-アセチルホモセリンからホモシステインを生成する。細菌やカビに存在し、抗菌剤のターゲットとなる。4量体構造を取っており、各サブユニットは2つのβシートとそれを取り囲むαヘリックスから成る。	
979	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase		2CU0	on_hold		グアノシン生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
980	Mannose-1-phosphate guanyltransferase		2CU2	on_hold		Mannose-1-phosphate guanyltransferaseは、微生物にとって必要な細胞壁合成に関わる酵素であり、抗菌剤のターゲットとなる。	
981	conserved hypothetical protein		2CU3	on_hold		この酵素(ThiS)はチアミン(B1)の五員環部位であるTHZ-Pを合成するのに関わる酵素の一つである。ThiSはThiF, G, H, Iと共にTHZ-Pを合成するのに関与していると考えられている。ほとんどの脊椎動物ではチアミンは合成されないとされているので、この酵素を研究することにより、新しい経路が見つかるかもしれない。	
982	gankyrin + S6ATPase		2CU4	on_hold		ユビキチン化されたタンパク質をATP依存に分解する26Sプロテアソームを制御するサブユニットおよびATP依存に分解する26Sプロテアソームドメインとの複合体である。構造上の特性としては、β-hairpin-α-hairpin repeat foldをもつankyrin repeat familyである。	
983	conserved hypothetical protein		2CU5	on_hold		このタンパク質は他の生物種で保存されている機能未知のタンパク質ファミリーに属していて、新規な機能の発見につながると期待できる。	
984	dTDP-4-keto-L-rhamnose reductase-related protein		2CU6	on_hold		このタンパク質はdTDP-4-keto-L-rhamnose reductase-related proteinとの相同性があり、抗菌剤のターゲットにできる可能性がある。	
985	Glycerate DHase		2CUK	on_hold		Glycerate DHaseはセリン生合成に関わる酵素である phosphoglycerate dehydrogenase と相同性がある。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用できる。	
986	glucose inhibited division protein A-related protein		2CUL	on_hold		tRNAの修飾反応を担う酵素 (glucose-inhibited division protein A (GidA)) の立体構造を解明した。GidAは、tRNAの修飾に関与することで、遺伝暗号の翻訳を正確に行うのに重要な役割を果たしている。GidAは原核生物に広く分布するが、ヒトにもGidAホモログが存在し、ミトコンドリアのtRNA修飾に関与すると考えられている。通常は分子量6万以上と大きい、生物種によっては3万以下の小さなGidAをもつものもある。分子量が小さなGidAの立体構造を原子レベルで決定することにより、分子に結合しているFAD近傍の余分の付加ドメインが存在することが2つのタイプの大きな違いであり、それが基質特異性の違いを生み出していることが推察できた。細菌の増殖を低下させるような薬剤の開発に役立つことが期待される。翻訳過程においてアダプターの役割を果たすtRNAの修飾は、翻訳を正確に行うために必要な反応の一つである。GidAの原子構造が明らかになったことで、その働きを抑制する薬剤のデザインの基盤が確立されたといえる。	
987	Phosphoglycerate kinase		2CUN	released	2005. 6. 14	本解析タンパク質は、解糖系に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
988	conserved hypothetical protein		2CUW	on_hold		他の生物種とのアミノ酸配列の比較から、本酵素はプリンヌクレオチド生合成経路4番目のformylglycinamide ribonucleotide (FGAM) 合成反応で働くことが予想される。	
989	Malonyl CoA-acryl protein transacylase		2CUY	on_hold		Malonyl CoA-acryl protein transacylase は脂質生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
990	GluRS+Glu		2CUZ	on_hold		高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とアミノ酸との複合体の結晶構造である。遺伝暗号の翻訳に必須であるGluRSの基質認識機構や反応機構を解明するために重要であるばかりでなく、構造をもとにした新たな抗生物質の設計の基礎となる。	
991	GluRS:tRNA:ATP:Glu-ol		2CV0	on_hold		高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とtRNA、ATPおよびアミノ酸アナログとの四者複合体の結晶構造である。GluRSの基質認識機構や反応機構を解明するために重要である。	
992	GluRS+tRNA (Glu)+Glu		2CV1	on_hold		高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とtRNA、およびアミノ酸との複合体の結晶構造。遺伝暗号の翻訳に必須であるGluRSの基質認識機構や反応機構を解明するために重要であるばかりでなく、構造をもとにした新たな抗生物質の設計の基礎となる。	
993	GluRS+tRNA (Glu)+Glu-SA		2CV2	on_hold		高度好熱菌由来グルタミルtRNA合成酵素とtRNA、および酵素に対する強力な阻害剤であるGlu-SAとの複合体の結晶構造である。遺伝暗号の翻訳に必須であるGluRSの基質認識機構や反応機構を解明するために重要であるばかりでなく、構造をもとにした新たな抗生物質の設計の基礎となる。	
994	thioredoxin peroxidase (peroxiredoxin)		2CV4	released	2005. 6. 14	チオレドキシンペルオキシダーゼはチオレドキシンの還元力を利用して生体に有害な過酸化水素やアルキルヒドロペルオキシドを分解する酵素である。これまでに、ヒト、ラット、大腸菌由来の酵素の立体構造が報告されている。超高度好熱性始原菌のチオレドキシンペルオキシダーゼは特徴的な一次配列を持っており、その構造を初めて明らかにした。本酵素は29 kDのモノマーが10個ドーナツ型に会合した興味深い四次構造をとっていた。また、本酵素が高温環境下で安定に機能する分子基盤が明らかになった。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
995	EF-Pyl		2CV7	on_hold		このタンパク質はEF-Tu様翻訳延長因子である。Methanosarcina属に存在し、Methylamine methyltransferase内UAGコドンへのピロリジン導入(翻訳)に必要と推定されているが正確な機能はよくわかっていない。EF-pylの機能と構造を明らかにする事で特定位置のUAGコドンへの非天然アミノ酸導入方法の開発が期待できる。	
996	tRNA-intron endonuclease		2CV8	on_hold		Endonucleaseは、RNA splicingの過程でpre-tRNAのイントロン部位を切断する酵素である。tRNA splicingは真核生物と古細菌でみられ、古細菌のCrenarchaeotaが最も古いと考えられている。この酵素は2つのドメインからなり、強い相互作用で2量体を形成している。Crenarchaeotaに属する種の結晶中のタンパク質の会合状態が他の古細菌の構造とは異なっていることがわかり、これはtRNAの認識の違いを示唆しているかもしれない。転写翻訳に関与する酵素の構造決定したことにより、転写翻訳に関する疾患の解明の手がかり与えるかもしれない。構造的には、2つのドメインからなり、C末ドメイン中のβストランドがもう一つの分子のそれに対応するβストランドと逆平行βシートをつくり、2量体を形成している。2つのArchaeal Endonucleaseの構造がすでに決定されていて、M. jannaschiiは4量体で、A. fulgidusは2量体で働くと考えられている。AFはMJの2倍の大きさがあり、2つの構造はよく重なり合う。STはMJとおなじ大きさであるが、今回決定したSTの構造は2量体であった。活性部位(pre-tRNAと結合部位)と予想されるポケットは、His125, Tyr117, Lys156によって形成されている。	
997	conserved hypothetical protein		2CV9	on_hold		本解析ターゲットは他の生物種でも保存されている酵素で、立体構造がホスファターゼと似ていることから新規のホスファターゼ活性が期待できる。	
998	conserved hypothetical protein		2CVB	on_hold		本タンパク質は、アミノ酸配列上、Cys-Xaa-Xaa-Cysという特徴的な配列を有する機能未知タンパク質である。今回の立体構造解析から、このタンパク質は酸化還元反応に関わるチオレドキシンのチオレドキシンのタンパク質フォールドを持つことが分かった。しかし、典型的なチオレドキシンは異なり、推定活性部位Cys-Xaa-Xaa-Cysの付近に更に保存されたCys残基が1つ存在する。この相違点を典型的なチオレドキシニン(TT0408)の立体構造と比較することで新たな酸化還元酵素としての性質が明らかになると期待できる。	
999	conserved hypothetical protein		2CVE	on_hold		真核生物を含む広い生物種に強く保存されている機能未知蛋白質であり、部分的にはヒト蛋白質とも強い相同性を持つ。既存の構造では大腸菌でのみ解かれているが、より高分解能での構造が得られたので、より詳細な構造についての議論が可能になり、機能解明の一助になると期待される。	
1000	thioredoxin reductase-related protein		2CVJ	on_hold		チオール基の酸化還元機構の一つにチオレドキシニン-チオレドキシニレダクターゼ系があり、チオレドキシニレダクターゼはNADPHの共存下でチオレドキシンのチオール基を還元する酵素である。本タンパク質はチオレドキシニレダクターゼのN末端側にあるFAD結合ドメインに相当し、当該の酸化還元機構に関係すると考えられる。	
1001	thioredoxin		2CVK	on_hold		このタンパク質はバクテリアから真核生物まで広く存在し、細胞内の酸化還元レベルの調整に機能していると考えられている。	
1002	probable translation initiation inhibitor YabJ (P21)		2CVL	on_hold		Thermus thermophilus由来の本解析タンパク質は一本鎖RNAのエンドリボヌクレアーゼ活性を持つ。mRNAに切れ目を生じさせてタンパク質合成を阻害する。以前はタンパク質合成の開始を阻害すると考えられていた。このタンパク質はプリン合成の制御にも関与している可能性がある。構造的には、主な2次構造のエLEMENTは4本の逆平行βストランドと1本の平行βストランドからなるシート構造および2本の平行にアレンジされたαヘリックスである。これらβシートとαヘリックスが向かい合って配置され、内部に疎水性コアを形成している。αヘリックス側の表面は塩基性、酸性アミノ酸が数多く見られ極性の高い表面となっている。空間群P21の非対称ユニットには6分子が認められた。	
1003	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase		2CVZ	released	2005. 6. 28	パリンの分解系で働く酵素(3-ヒドロキシブチル酸デヒドロゲナーゼ)の立体構造を解明した。この酵素の立体構造を決定することにより、3-ヒドロキシブチル酸をメチルマロン酸セミアルデヒドに変換する反応を原子レベルで理解できるようになった。細菌の増殖を低下させる薬剤(抗菌剤)の開発に役立つ。アミノ酸はタンパク質を構成する材料というだけでなく、分解してエネルギーを得るための食物分子でもある。よって、原子レベル分解能での構造情報は、この酵素の働きを抑制して細菌の増殖を防ぐ薬剤の開発に役立つことが期待される。	
1004	probable translation initiation inhibitor YabJ (R3)		2CW4	on_hold		Thermus thermophilus由来の本解析タンパク質は一本鎖RNAのエンドリボヌクレアーゼ活性を持つ。mRNAに切れ目を生じさせてタンパク質合成を阻害する。以前はタンパク質合成の開始を阻害すると考えられていた。このタンパク質はプリン合成の制御にも関与している可能性がある。構造的には、主な2次構造のエLEMENTは4本の逆平行βストランドと1本の平行βストランドからなるシート構造および2本の平行にアレンジされたαヘリックスである。これらβシートとαヘリックスが向かい合って配置され、内部に疎水性コアを形成している。αヘリックス側の表面は塩基性、酸性アミノ酸が数多く見られ極性の高い表面となっている。空間群R3の非対称ユニットには1分子が認められた。	
1005	conserved hypothetical protein		2CW5	on_hold		本タンパク質はバクテリア由来のフッ素付加酵素と有意な配列類似性がある。今回得られた立体構造からフッ素付加活性の基質特異性の理解が進展する。また好熱菌由来のタンパク質なので、フッ素付加の工業利用にも有用となる可能性がある。	
1006	Tim44	PF04280 Tim44-like domain	2CW9	on_hold		Tim44は、核内DNAにコードされたタンパク質のミトコンドリア内膜透過輸送に必須のタンパク質である。Tim44はミトコンドリア内膜に結合しており、mtHsp70と相互作用し、mtHsp70のミトコンドリアインポートを促進させる。糖尿病性腎症の腎臓でTim44がup-regulateされている。このドメインはC末端にあり、安定した構造をとっていることがわかっている。4本のアンチパラレルβ鎖からなるねじれたβシートを、5本のαヘリックスが3方を囲む構造をとっている。核輸送に関わる、p15の立体構造と類似している。	
1007	single-stranded DNA binding protein		2CWA	on_hold		このタンパク質は単鎖DNAに結合するタンパク質であり、複製や組換えに重要な役割を果たす。一本鎖DNA結合タンパク質に保存されているOBフォールドを持つドメインが2つ存在する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1008	ADP-ribosylglycohydrolase-related protein		2CWC	on_hold		本タンパク質は、ADP-リボシル修飾されたタンパク質からADP-リボースを除く酵素であり、バクテリアから真核生物(ヒトを含む)まで極めて多くの生物種で保存されている。ADP-リボシル修飾は様々な酵素の活性のON・OFFを制御する翻訳後修飾であり、本立体構造によって幅広い生物で使われている作用機構が理解できると期待できる。	
1009	Protein-tyrosine phosphatase		2CWD	on_hold		シグナル伝達に関係する酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
1010	PH1932		2CWE	on_hold		DNA結合蛋白質と予想されており、構造解析から得られた情報が機能解明に貢献すると思われる。	
1011	putative translation initiation inhibitor	PF01042	2CWJ	on_hold		Aeropyrum pernix 由来の本解析タンパク質は一本鎖RNAのエンドリボスクレアーゼ活性を持つ。mRNAに切れ目を生じさせてタンパク質合成を阻害する。以前はタンパク質合成の開始を阻害すると考えられていた。このタンパク質はプリン合成の制御にも関与している可能性がある。構造的には、主な2次構造のエLEMENTは4本の逆平行βストランドと1本の平行βストランドからなるシート構造および2本の平行にアレンジされたαヘリックスである。これらβシートとαヘリックスが向かい合って配置され、内部に疎水性コアを形成している。αヘリックス側の表面は塩基性、酸性アミノ酸が数多く見られ極性の高い表面となっている。	
1012	hypothetical nucleoside-diphosph		2CWK	on_hold		ヌクレオシド二リン酸キナーゼはヌクレオシド三リン酸のγ位のリン酸基をヌクレオシド二リン酸に転移する酵素であり、反応はほぼ完全な平衡反応である。また基質認識に対する特異性は低く任意のヌクレオチドを基質とする。結晶構造は非対称単位中に2分子含みホモダイマーを形成している。ダイマー間の相互作用は接触部位のβストランドがシートを形成するのと疎水性相互作用が主なものである。このホモダイマーは結晶学的3回軸によって関係付けられ、全体として6量体となっている。	
1013	manganese-containing pseudocatalase		2CWL	on_hold		酸素分子は好気性生物にとって最も重要な生体分子であるが、スーパーオキシドや過酸化水素といった毒性のある活性酸素分子を産み出す。従ってこれら活性酸素分子に対する防御機構は重要である。本酵素は過酸化水素を無毒化するカタラーゼ(金属マンガンを活性中心に持つ)である。好熱菌に存在する酸化障害防止機構を解明する上で重要である。	
1014	transaldolase	transaldolase 1	2CWN	on_hold		グルコース酸化経路の一つである、ペントース-リン酸回路で重要な働きをしている酵素である。sedoheptulose 7-phosphate + D-glyceraldehyde 3-phosphate = D-erythrose 4-phosphate + D-fructose 6-phosphate を触媒する。関連疾患としては多発性硬化症があげられる。α/βバレルの構造をとっていて、他の種のトランスアルドラーゼと非常に良く似ている。	
1015	MetRS related protein		2CWP	on_hold		このタンパク質はメチオニル tRNA合成酵素のC末ドメインと相同性が高い(1MKH)。ホモダイマーはtRNA構造と非常に強い親和性を示し、tRNA構造のL字型の保持に関与していると考えられている。構造は1MKHをモデルとした分子置換法を用いて解析された。2次構造としてαヘリックスを含まず、すべてβシートからなる構造である。結晶の非対称単位中に1分子を含むが結晶学的2回軸に沿ってホモダイマーを形成している。	
1016	conserved hypothetical protein TT1628		2CWQ	on_hold		このタンパク質は配列保存機能未知タンパク質であり、構造解析をすることによって、機能を知る手がかりが得られる可能性があると考えられる。αヘリックスのみからなる特徴的な構造である。	
1017	conserved hypothetical protein+SAH		2CWW	released	2005. 10. 11	SAH結合型の構造中に於いてSAH/SAM補助因子結合部位を直接確認できる。SAM結合部位はAsn265、Asp238、Phe217、Pro288、Asp286、Arg202から形成されている。基質のRNAは大きくて深い溝に結合するようである。溝の基部は中心部868~194残基目)で形成され、側部はSAM結合部位であるC末端部(195~382残基目)とN末端部(1~64残基目)から形成されている。Cys326は6番目の炭素原子にattachする活性部位らしい。本構造はSAHとの結合型をC2結晶系で解いた物であり解像度は2.60 Åである。	
1018	ribulose-bisphosphate carboxylase large chain (P4212)		2CWX	on_hold		C02をribulose-1,5-bisphosphateに付加し、3-phosphoglycerateと2-phosphoglycolateを生成する。植物のオーソログでは光合成の律速酵素である。P4212結晶系である。	
1019	TT1478(large unit cell)		2CWY	on_hold		原核生物や古細菌の持つ、保存性機能未知タンパク質の一群である、Domain of unknown function (DUF309)における初めての構造である。本タンパクはHXXXEXXモチーフを含んでおり、金属結合との関連が示唆される。2次構造としてはβシートを含んでおらず、5本のαヘリックスから構成されていた。	
1020	possible thioesterase		2CWZ	on_hold		全長タンパク質の機能はまだ解っていないが、解析したドメインはチオエステラーゼの機能を持つかもしれない。構造はチオエステラーゼスーパーファミリーフォールドである。逆平行のシートを形成する5本のβストランドと2本のαヘリックスからなる。βストランド同士の相互作用により二量体が形成され、二量体では10本のβストランドとなっている。	
1021	PH0734 homolog+sulfate		2CX0	on_hold		本解析タンパク質は、PUA domainをもち、RNAの修飾に関与すると考えられる。	
1022	PH0734 homolog+tartrate		2CX1	on_hold		本解析タンパク質は、PUA domainをもち、RNAの修飾に関与すると考えられる。	
1023	hypothetical bacterioferritin comigratory protein (P6422)		2CX3	on_hold		過酸化水素を水に分解し、活性酸素種から生体を防御する。真核由来のオーソログは過酸化水素シグナリングに関与する。こちらはP6422結晶である。メインモチーフとしてチオレドキシシンフォールドを有する。Cys50が活性中心である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1024	hypothetical bacterioferritin comigratory protein		2CX4	on_hold		過酸化水素を水に分解し、活性酸素種から生体を防御する。真核由来のオソログは過酸化水素シグナリングに関与する。こちらはP41結晶である。メインモチーフとしてチオレドキシソフォルドを有する。Cys50が活性中心である。	
1025	probable transcriptional regulator		2CX5	on_hold		TT1048は誤って合成されたアミノアシル tRNAの修復("trans-editing")酵素であると予想されている。古細菌、真核生物、一部のバクテリアはProRS中に"cis-editing"ドメインを持たないため、"trans-editing"酵素(ProX)が修復を行なうが、T. thermophilusにおいても"cis-editing"を持たないため、TT1048が"trans-editing"酵素として機能していると考えられる。モノマーは8本のβシートと7本のαヘリクスとからなる。中央のβシートをαヘリクスが取り巻くα/β構造をとっている。結晶中の非対称単位には2分子のタンパク質が含まれている。	
1026	Barstar		2CX6	on_hold		他生物種のヌクレアーゼインヒビターとの構造相溶性高い。	
1027	SCP-2		2CX7	on_hold		TT1886はステロール輸送タンパク質(SCP-2)であると予測されている。SCP-2はさまざまな脂質に対しブロードな選択性を持つことが知られている。これまでに脂質との複合体も含め、いくつかの類似構造が解かれている。今回解いた結晶構造は非対称単位中にタンパク質2分子を含む。中心に5本のストランドからなるβシートがありその周りをαヘリクスが取り囲むα/β構造をとっている。130残基のうちN末のメチオニンのみが電子密度からは同定できなかった。他のSCP-2同様脂質結合が予想される部分は疎水性が高いがアミノ酸の相溶性は特に認められない。	
1028	methyltransferase SAH complex		2CX8	on_hold		C末ドメインはメチルトランスフェラーゼと構造類似性がある。N末ドメインとC末ドメインとがフレキシブルなリンカーで結合し、ダイマー構造をとり、Knot構造を持っている。メチルトランスフェラーゼとの相溶性より、AdoMet、AdoHcyの結合を予想し、複合体としての解析を試みた結果、結合部位にリガンドの結合を確認できた。	
1029	acyl-CoA dehydrogenase		2CX9	on_hold		本解析タンパク質はAcy1-CoAの加水分解酵素である。	
1030	Leucyl/phenylalanyl-tRNA-protein transferase		2CXA	on_hold		L/F-transferaseは、アミノアシルtRNA (Leucyl-tRNA / Phenylalanyl-tRNA)のアミノ酸を、タンパク質N末端のアルギニン又はリシンに転移する酵素であり、タンパク質の分解に関与している。今回決定したタンパク質単体構造から、L/F-transferaseは2つのドメインから構成されることが明らかになった。2つのドメインで作られる中央の大型ポケット上に1次配列の保存性が高い部分が集中している。	
1031	NusA(N utilization substance protein A) homolog		2CXC	on_hold		古細菌NusAは、mRNA転写終結因子として知られるバクテリアNusAにホモロジーがあるが、C末端部のみをコードするトランケート遺伝子である。バクテリアNusAのC末端側はmRNAの転写終結シグナル結合部位であるため、古細菌NusAも転写終結に関連があるのではないかと予想されている。核酸結合能を有するKHドメインが2つ連続している。バクテリアNusAとも共通の特徴的な立体配置を持っていたため、古細菌NusAも転写終結に関与している可能性が高くなった。	
1032	TT1478(small unit cell)		2CXD	on_hold		原核生物や古細菌の持つ、保存性機能未知タンパク質の一群である、Domain of unknown function (DUF309)における初めての構造である。本タンパク質はHXXXXXモチーフを含んでおり、金属結合との関連が示唆される。2次構造としてはβシートを含んでおらず、5本のαヘリックスから構成されていた。	
1033	ribulose-bisphosphate carboxylase large chain (C2)		2CXE	on_hold		C02をribulose-1,5-bisphosphateに付加し、3-phosphoglycerateと2-phosphoglycolateを生成する。植物のオソログでは光合成の律速酵素である。C2結晶系である。	
1034	Rap2 interacting protein x	RUN domain	2CXF	on_hold		全長はRap2のエフェクターと予測される機能未知蛋白質 (Rap2 interacting protein x)。今回解析したRUNドメインは、RPIP8、UNC-14、NESCAなどシグナル伝達に関わる蛋白質に存在し、蛋白質間相互作用に重要な役割を持つことが明らかにされた。構造上の特性は、7つのアルファヘリックスからなるbundle構造をとることである。5番目のアルファヘリックス上に塩基性残基が集まり、分子表面に正の電荷を与えている。	
1035	conserved hypothetical protein APE1443		2CXH	on_hold		アフリカツメガエルXenopus laevis embryos stage 11で機能未知の転写物として同定され、その後リボソーム生成、特に60S Large subunitのmaturationに関与するたんぱく質であることが分かった。rRNAに結合活性があるが、U3 or U8 snoRNAには、結合しない。また、Hela細胞で発現させると、核に局在する。Brix domainの名前の由来は「Biogenesis of Ribosomes in Xenopus (AF319877)」。RNA結合活性をもち、同じファミリーで真核生物では、U3 snoRNP protein 4 homolog (IMP4)などがある。	
1036	PheRS beta (truncate)		2CXI	on_hold		好熱古細菌由来フェニルアラニンtRNA合成酵素のβ鎖の結晶構造である。正確な遺伝暗号の翻訳に必須である校正反応における基質認識と触媒反応機構を解明するために重要となる。	
1037	TIG domain of human calmodulin-binding transcription activator 1 (CAMTA1)	TIG domain	2CXK	on_hold		CAMTA1は神経芽細胞腫の腫瘍抑制因子として同定された。細胞周期の制御と細胞分化に関与しているかもしれない。本解析ドメインであるTIGドメインはDNA結合と関わる可能性がある。このTIGドメインは溶液中、および結晶中で二量体を形成している。ドメイン全域がβフォールドをとっており、逆平行のシートを形成する7本のβストランドが扁平な平行様構造を形成していた。	
1038	Rap2 interacting protein x	RUN domain	2CXL	on_hold		全長はRap2のエフェクターと予測される機能未知蛋白質 (Rap2 interacting protein x)。今回解析したRUNドメインは、RPIP8、UNC-14、NESCAなどシグナル伝達に関わる蛋白質に存在し、蛋白質間相互作用に重要な役割を持つことが明らかにされた。構造上の特性は、7つのアルファヘリックスからなるbundle構造をとることである。5番目のアルファヘリックス上に塩基性残基が集まり、分子表面に正の電荷を与えている。	



(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1039	Py1S+AMPPNP+Boc-Lys		2CXM	on_hold		22番目のアミノ酸であるピロリジンをtRNAに付加する酵素ピロリジルトRNA合成酵素と、非天然アミノ酸であるBocLysとの複合体の構造解析である。	
1040	TT1515		2CXW	on_hold		本解析ターゲットは配列保存機能未知タンパク質だが、構造解析の結果、4量体のタンパク質であった。立体構造ホモロジー検索をした結果、最も類似しているものでZ値が3.1であったことから、本タンパク質の構造は新規なホールドであると思われる。	
1041	GTP-binding protein+GDP		2CXX	on_hold		GTP結合型とGDP結合型の2つの構造をとることによって、細胞内シグナル伝達系において分子スイッチとして機能すると推測される。低分子量GTP結合タンパク質であるRasの構造に類似したGTPaseドメインの構造を含む。分子内にGDPを1分子結合していた。	
1042	hBAF250b	ARID domain	2CXY	on_hold		BAF250は、哺乳類のSWI/SNF様のクロマチン再編成複合体であるBAF複合体のサブユニットの一つであり、DNA結合ドメインであるAT-rich interaction domain (ARID) を保持している。BAF複合体のサブユニットのいくつかは、ガン抑制に関与しているが、BAF250に関しては、最近様々な種類のガン細胞で発現が低下していることが報告されている。ARIDは、拡張されたhelix-turn-helix motifを持つが、これまでX線結晶解析による構造決定はなされていなかった。今回は、ヒト由来のBAF250 isoformの一つであるhBA250bのARIDの立体構造をX線結晶解析法により決定した。本解析タンパク質はガン抑制と関連している。	
1043	Shikimate 5-dehydrogenase		2CY0	released	2005.7.12	必須芳香族アミノ酸の生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はNADP結合状態の構造である。	
1044	NusA (N utilization substance protein A) homolog		2CY1	on_hold		古細菌NusAは、mRNA転写終結因子として知られるバクテリアNusAにホモロジーがあるが、C端部位のみをコードするトランケート遺伝子である。バクテリアNusAのC末端側はmRNAの転写終結シグナル結合部位であるため、古細菌NusAも転写終結に関連があるのではないかと予想されている。核酸結合能を有するKHドメインが2つ連続している、バクテリアNusAとも共通の特徴的な立体配置を持っていたため、古細菌NusAも転写終結に関与している可能性が高くなった。また、地上結晶に比べて宇宙結晶では構造が安定化して、核酸との結合に重要なモチーフの形状がよく見えていた。	
1045	probable acetyltransferase+CoA		2CY2	on_hold		立体構造の解析により、TT1606はアセチル基転移酵素スーパーファミリーに属し、酵母由来ヒストンアセチル基転移酵素Hpa2と非常に類似していることが明らかになった。アセチル基供与体(コエンザイムA)のリン酸基が結合する部位には、結晶化剤に含まれるMESバッファー分子が非常に類似した様式で結合している。	
1046	Eps8-R1	PTB domain	2CY4	on_hold		Epidermal growth factor substrate-8 (Eps8) related protein 1のphospho-tyrosine binding (PTB) domain. Eps8はadapter/scaffoldタンパクでEGFR, Abil, Sos1, IRSp53などに結合して、細胞骨格形成・エンドサイトーシスなどに関与している。Eps8は、PTBドメインよりも下流側の機能解析は進んでいるが、PTBドメインの機能はわかっておらず、構造の解明が機能解析に手がかりを与える事になるかもしれない。	
1047	Epidermal growth factor substrate-8 (Eps8) related protein 1	phospho-tyrosine binding (PTB) domain	2CY5	on_hold		Epidermal growth factor substrate-8 (Eps8) related protein 1のphospho-tyrosine binding (PTB) domain. Eps8はadapter/scaffoldタンパクでEGFR, Abil, Sos1, IRSp53などに結合して、細胞骨格形成・エンドサイトーシスなどに関与している。Eps8は、PTBドメインよりも下流側の機能解析は進んでいるが、PTBドメインの機能はわかっておらず、構造の解明が機能解析に手がかりを与える事になるかもしれない。	
1048	D-phenylglycine aminotransferase (D-PhgAT)		2CY8	on_hold		ピロドキサルリン酸を補酵素にもち、D-フェニルグリシンまたはD-4-ヒドロキシフェニルグリシンのアミノ基を2-オキソグルタル酸に転移し、L-グルタミン酸を生成する反応を触媒する酵素。3つのドメインからなる。ビタミンB6酵素のαファミリーのサブグループIIに相当するトポロジーを有する。	
1049	thioesterase superfamily member 2		2CY9	on_hold		4HBTドメインは、4-hydroxybenzoateから4-chlorobenzoateへと変換する酵素や、Long-chain acyl-CoA hydrolases hydrolyse palmitoyl-CoAからCoAとpalmitateへと変換するcytosolic long-chain acyl-CoA thioester hydrolasesにも存在している。このことから本タンパク質もThioesterase活性を有すると考えられる。Mus musculus のthioesterase superfamily member2に属するものと推測された。培養細胞内においてtransient or stableに導入した活性型RasによりRNA量が増加した遺伝子の一つである(遺伝子Gとの連携研究)。このことから、Rasによって制御されている因子である。2本のαヘリックスと6本のβシートから構成されていた。また、dimerにて生体内にある可能性が示唆される。	
1050	Tyrosyl-tRNA synthetase		2CYA	on_hold		TyrRSはクラスIに属するアミノアシルtRNA合成酵素で、tRNAにアミノ酸のチロシンをエステル付加する酵素であり、たんぱく合成に必須の酵素である。今回解析したドメインはクラスIタイプのアミノアシルtRNA合成酵素に特徴的なRossmann foldの触媒部位を持つ。このタンパク質が欠損するとタンパク質の合成に支障をきたす。構造としては、ダイマーで機能するのが特徴である。	
1051	Tyrosyl-tRNA synthetase		2CYB	on_hold		TyrRSはクラスI cに属し、tRNAにチロシンを付加するアミノアシルtRNA合成酵素であり、タンパク質合成に必須の酵素である。今回解析したドメインはクラスIタイプのアミノアシルtRNA合成酵素に特徴的なRossmann foldの触媒部位を持つ。このタンパク質が欠損するとタンパク質の合成に支障をきたす。構造としては、ダイマーで機能するのが特徴である。	
1052	Tyrosyl-tRNA synthetase		2CYC	on_hold		TyrRSはクラスI cに属し、tRNAにチロシンを付加するアミノアシルtRNA合成酵素であり、タンパク質合成に必須の酵素である。今回解析したドメインはクラスIタイプのアミノアシルtRNA合成酵素に特徴的なRossmann foldの触媒部位を持つ。このタンパク質が欠損するとタンパク質の合成に支障をきたす。構造としては、ダイマーで機能するのが特徴である。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1053	V-type Na <sup>+</sup> -ATPase	NtpK ring (+Li)	2CYD	on_hold		真核細胞の細胞内小胞などに存在するV型ATPaseはその内腔酸性化を担う重要な膜タンパク質である。真正細菌として初めて腸内連鎖球菌(Enterococcus hirae)より真核細胞型V-ATPaseのホモログが見つかった。この酵素はATPのエネルギーを使って、Na <sup>+</sup> を勢力的に細胞外に排出することにより、本菌の高アルカリ、高塩濃度条件下での生育を可能にしている。真核細胞V-ATPaseの膜タンパク質部分であるcリングはV型ATPaseとして機能するのみならず、膜融合を引き起こす主役であるという報告や、細胞間で2量体を形成し、ギャップジャンクションとして機能すると報告されている重要なドメインである。cリングに対応するNtpKリングは高親和性でNa <sup>+</sup> を結合し、V1ドメインによりATPのエネルギーから回転という物理的なエネルギーに変換されることにより膜内で回転するローターとして機能している。NtpIサブユニットとの境界面でNa <sup>+</sup> を輸送していると考えられている。解析したのはLi+結合型であり、NtpKリング内にリビッドが結合している。Na <sup>+</sup> とLi <sup>+</sup> を特異的に結合するポケットが存在する。	
1054	TT1811		2CYE	on_hold		esteraseに分類されると考えられる。3本のαヘリックスと5本のβシートから構成されている。	
1055	yeast NAS6 + yeast RPT3 complex	26S proteasome regulatory subunit	2CYI	on_hold		ユビキチン化されたタンパク質をATP依存的に分解する、26Sプロテアソームを制御するサブユニットである。yeast NAS6とyeast RPT3の結合は、イオン結合を中心とした結合であった。	
1056	hypothetical protein PH1505		2CYJ	on_hold		このターゲットは配列保存機能未知タンパク質であり、構造解析をすることによって、機能を知る手がかりが得られる可能性があると考えられる。	
1057	Nas6p complex	26S proteasome regulatory subunit	2CYL	on_hold		ユビキチン化されたタンパク質をATP依存的に分解する、26Sプロテアソームを制御するサブユニットである。yeast NAS6とyeast RPT3の結合は、イオン結合を中心とした結合であった。	
1058	DiaA		2CYN	on_hold		これはDnaAの相互作用因子である。DiaAは、グラム陰性細菌の細胞外膜の主要構成成分(リポ多糖)を合成するgmhAと高いアミノ酸の相同性を示す。DiaAとDnaAの相互作用の生物学的意義については未だ不明だが、今回の構造解析の結果が手がかりを与えるかもしれない。分子間で(A分子Cys8-B分子Cys181)ジスルフィド結合を形成する。この結合によって、DiaAの2量体が安定化されていることが考えられる。糖リン酸結合モチーフを有する。ホモログであるgmhAも同様にこのモチーフを有し、D-GLYCERO-D-MANNOPYRANOSE-7-PHOSPHATEとの複合体の結晶構造が報告されている。	
1059	DnaA	domain 3	2CYO	on_hold		全長タンパク質DnaAは複製開始因子で、解析したdomain 3はATPを加水分解し、複製開始領域のDNA構造を再編成する。構造上の特性は、AAA+ ATPase。ATP/ADP結合モチーフをもつ。	
1060	DnaA	domain 3	2CYQ	on_hold		全長タンパク質DnaAは複製開始因子で、解析したdomain 3はATPを加水分解し、複製開始領域のDNA構造を再編成する。構造上の特性は、AAA+ ATPase。ATP/ADP結合モチーフをもつ。	
1061	tRNA pseudouridine synthetase A		2CYV	on_hold		本解析タンパク質はtRNAのアンチコドンステムループに位置する塩基U38 U39 U40をそれぞれ修飾塩基psi38 psi39 psi40変換する酵素活性を持つ。全種類のtRNAをターゲットにしており、翻訳システムの安定化に寄与する重要なタンパク質である。2量体で機能すると報告されているが、構造解析の結果 asymmetric unit中に回転対象した2分子が見出され、予想を裏付けることになった。活性保存部位の詳細な分析をすることで、タンパク質がフレキシブルに、複数の塩基ターゲットを認識できるメカニズムの解明が期待される。	
1062	Ubc7		2CYX	on_hold		これはタンパク質をユビキチン化する酵素複合体の一つで、ユビキチンを基質タンパク質に結合させるユビキチン結合酵素(E2)である。基質タンパク質をユビキチン化することにより、プロテアソームでの分解を促進する。Ubc7は、常染色体劣性若年性パーキンソン病(AR-JP)の原因遺伝子であり、ユビキチンリガーゼ(E3)であるPerkinと結合して働くユビキチンリガーゼ(E2)であり、パーキンソン病とも何らかの関わりがある可能性が考えられる。酵母Ubc7と全体的には類似した構造であるが、一部において、特にループ構造部分では顕著な構造の違いが見られる。	
1063	PH1519		2CYY	on_hold		PH1519は、古細菌及び真正細菌に分布する転写因子で、Lrpと呼ばれるファミリーに属する。PH1519タンパク質の構造に新規性はないが、高分解能(1.6Å)で解析できたため、これまでに明らかにされていなかったエフェクターと思われる分子の結合も見られており、活性制御機構を明らかにできる可能性がある。	
1064	活性型ニトリルヒドラーゼ(嫌気条件結晶化)		2CYZ	on_hold		ロドコッカス菌の産生する酵素でニトリル化合物に水を付加して対応するアミド化合物に無毒化する。光により活性化される特徴がある。嫌気条件で光活性化したものは長期にわたり活性を維持することが知られており、活性を保持した酵素の結晶構造をあきらかにした。	
1065	活性型ニトリルヒドラーゼ(好気条件結晶化)		2CZO	on_hold		ロドコッカス菌の産生する酵素でニトリル化合物に水を付加して対応するアミド化合物に無毒化する。光により活性化される特徴がある。好気条件で光活性化したものは急速に活性を失うことが知られており、こうして失活した酵素の結晶構造を明らかにした。	
1066	活性型ニトリルヒドラーゼ阻害剤複合体(嫌気条件結晶化)		2CZ1	on_hold		ロドコッカス菌の産生する酵素でニトリル化合物に水を付加して対応するアミド化合物に無毒化する。光により活性化される特徴がある。活性を維持するために拮抗阻害剤としての酪酸が有効であることが知られており、その複合体の結晶構造を明らかにした。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4.(2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1067	glutathione transferase (GST, C2221)		2CZ2	on_hold		グルタチオントランスフェラーゼ (GST) は、グルタチオンと生体異物化合物の間のチオエーテル複合体の生成を触媒する。その主要な生物学的機能は、多くがチトクロームP450や他のオキシダーゼによって触媒される細胞の酸化反応によって形成される求電子性化学種に対する防御であると考えられている。メインモチーフとしてチオレドキシソールドを有する。グルタチオン結合部位が見出されている。	
1068	glutathione transferase (GST, P3121)		2CZ3	on_hold		グルタチオントランスフェラーゼ (GST) は、グルタチオンと生体異物化合物の間のチオエーテル複合体の生成を触媒する。その主要な生物学的機能は、多くがチトクロームP450や他のオキシダーゼによって触媒される細胞の酸化反応によって形成される求電子性化学種に対する防御であると考えられている。maleylacetoacetate isomerase (MAAI; EC 5.2.1.2)は、phenylalanine/phenylacetate分解経路の5段階目であり、maleylacetoacetateからfumarylacetoacetateへの変換を触媒する。5-81aaにGST_Nと96-197aaにGST_Cドメインを有する。5-81aaにGST_Nと96-197aaにGST_Cドメインを有する。チオレドキシソールドを有することからisomerase活性を持つと考えられる。phenylalanine/phenylacetate分解経路において他の段階が欠けると、type I tyrosinemia (276700)やphenylketonuria (261600)のような代謝異常を引き起こすことが報告されている。また、遺伝的にMAAI欠損患者はtype I tyrosinemiaとは異なる症状を呈し、type I tyrosinemiaと呼ばれている。本タンパク質は強いMAAI活性を有し、代謝において重要な働きをしている。グルタチオン結合部位が見出されている。	
1069	conserved hypothetical protein TT1772		2CZ4	on_hold		このタンパク質は配列保存機能未知タンパク質であり、構造解析をすることにより機能を推定できる可能性があると考えられる。構造解析の結果、シグナル伝達タンパク質のPIIタンパク質に構造的に類似していることがわかり、このタンパク質もシグナル伝達に関わっている可能性があると考えられる。	
1070	putative orotidine 5'-phosphate decarboxylase		2CZ5	on_hold		新規(de novo)ピリミジン合成系の最終段階の反応を触媒する酵素である。orotidine 5'-monophosphate(OMP)から、脱炭酸して、Uridine 5'-monophosphate(UMP)を生成する反応を触媒する。Methanobacterium thermoautotrophicum由来のODCaseに、全体的な構造は類似しているが、細部では一部異なることもある。	
1071	不活性型ニトリルヒドラーゼ基質アナログ複合体		2CZ6	on_hold		ロドコッカス菌の産生する酵素でニトリル化合物に水を付加して対応するアミド化合物に無毒化する。光により活性化される特徴があり、活性化前の不活性型酵素と基質アナログの複合体の結晶解析から、水和反応開始前の構造を明らかにした。	
1072	ニトリルヒドラーゼ光活性化中間体		2CZ7	on_hold		ロドコッカス菌の産生する酵素でニトリル化合物に水を付加して対応するアミド化合物に無毒化する。光により活性化される特徴がある。光活性化過程に現れる中間体の結晶構造を明らかにした。	
1073	TT0972		2CZ8	on_hold		TT0972は、古細菌、Halobacterium salinarum由来のリボフラビン結合タンパク質；dodecinのホモログである。TT0972の結晶構造はdodecinと同様12量体であり、全体構造もdodecinに類似していた。	
1074	PH0369		2CZ9	on_hold		アミノ酸配列に対するホモロジー検索の結果、本タンパク質は、ガラクトースを基質とし、ATPの加水分解を伴ってガラクトース1-リン酸を生成する酵素であるガラクトキナーゼと呼ばれる酵素と思われる。ガラクトキナーゼは、ガラクトース代謝過程の遺伝的欠損によりグルコースへの変換が障害される中毒性疾患である、ガラクトース血症に関連している。ガラクトキナーゼが欠損すると、ガラクトース1-リン酸が欠乏し、白内障を発症する。	
1075	TT1045		2CZA	on_hold		TT1045は5つの二量体が環状に連結した10量体のタンパク質であった。二量体の構造はPH1519のエフェクター結合ドメインに類似していた。	
1076	Se1D		2CZB	on_hold		セレンシステイン合成系においてセレンをATPで活性化してセレン化リン酸を合成する。	
1077	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase		2CZC	on_hold		本解析タンパク質はD-glyceraldehyde-3-phosphateを1,3-diphospho glycerateに変換する反応を触媒する脱水素酵素で、解糖系の重要酵素であり、エネルギー産出に必須の酵素である。特徴的な4量体構造をとっている。	
1078	putative orotidine 5'-phosphate decarboxylase		2CZD	on_hold		新規(de novo)ピリミジン合成系の最終段階の反応を触媒する酵素である。orotidine 5'-monophosphate(OMP)から、脱炭酸して、Uridine 5'-monophosphate(UMP)を生成する反応を触媒する。特徴的なダイマー構造をとっている。	
1079	putative orotidine 5'-phosphate decarboxylase + UMP		2CZE	on_hold		新規(de novo)ピリミジン合成系の最終段階の反応を触媒する酵素である。orotidine 5'-monophosphate(OMP)から脱炭酸して、Uridine 5'-monophosphate(UMP)を生成する反応を触媒する。生成物であるUMPが高濃度で存在すると活性が阻害される(生成物阻害)。高濃度のUMPを添加した条件で結晶化したところ、UMPが活性部位に結合している構造が得られた。これにより、生成物UMPによる活性阻害の機構や活性の調節機構の解明に役立つと考えられる。	
1080	putative orotidine 5'-phosphate decarboxylase + XMP		2CZF	on_hold		新規(de novo)ピリミジン合成系の最終段階の反応を触媒する酵素である。orotidine 5'-monophosphate(OMP)から、脱炭酸して、Uridine 5'-monophosphate(UMP)を生成する反応を触媒する。結晶に添加した、生成物アナログのXMPは酵素反応阻害剤であり、反応部位に結合する。活性阻害剤のXMPは、酵素反応触媒部位に結合していた。	
1081	Probable phosphoribosylglycinamide formyltransferase		2CZG	on_hold		本解析タンパク質はプリン合成系で働くphosphoribosylglycinamide formyltransferaseであると予想され、glysinamide ribonucleotideのformylationを触媒すると考えられる。ホモログと同様にダイマー構造をとっている。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1082	IMPA2(myo-inositol monophosphatase 2)+Mg (P212121)		2CZH	on_hold		myo-inositol 1-phosphateを加水分解して脱リン酸化する反応を触媒する酵素である。phosphatidylinositol signaling pathway関わる酵素の一つであり、活性には、Mgイオンが必要である。IMPA2は、IMPA1とともに双極性躁鬱病の発症に関わると考えられている酵素である。IMPA1は、Liイオンによって活性を阻害されることが知られており、この現象が、Liイオン治療の分子メカニズムであると考えられている。構造解析の結果が発祥機構の解明や将来的に病気の治療などに役立つ可能性があると考えられる。活性に必要なMgイオンと共に結晶化したときの構造である(結晶系は、P212121)。50%の相同性のあるIMPA1と基本的には類似している構造であるが、細部にはいくつかの違いがあり、今後検討する必要がある。	
1083	IMPA2(myo-inositol monophosphatase 2)+Ca		2CZI	on_hold		myo-inositol 1-phosphateを加水分解して脱リン酸化する反応を触媒する酵素である。phosphatidylinositol signaling pathway関わる酵素の一つであり、活性には、Mgイオンが必要である。CaイオンはMgと置き換わり活性を阻害する。IMPA2は、IMPA1とともに双極性躁鬱病の発症に関わると考えられている酵素である。IMPA1は、Liイオンによって活性を阻害されることが知られており、この現象が、Li治療の分子メカニズムであると考えられている。構造解析の結果が発祥機構の解明や将来的に病気の治療などに役立つ可能性があると考えられる。活性を阻害するCaイオンと共に結晶化したときの構造である。活性型(Mg)と比較検討することにより、阻害機構に関する知見が得られる可能性がある。	
1084	SsrA(tmRNA)-binding protein (small protein B)		2CZJ	on_hold		SmpBはSsrA(tmRNA)結合タンパク質である。コアドメイン(全長144残基中の1~123番目のアミノ酸まで)とtmRNAのtRNAドメインとの複合体である。タンパク質は1ドメインのパレル構造である。パレルを付随する $\alpha$ ヘリックスと中央のロングループが、それぞれRNA 2箇所のステムに結合し、RNA立体構造の保持に貢献している。RNA部位にはvivoで観察される修飾塩基を導入したことにより、ループ-ループ結合が安定し、塩基スタックなど微細構造が明らかになった。	
1085	IMPA2(myo-inositol monophosphatase 2)+Mg (P3121)		2CZK	on_hold		myo-inositol 1-phosphateを加水分解して脱リン酸化する反応を触媒する酵素である。phosphatidylinositol signaling pathway関わる酵素の一つであり、活性には、Mgイオンが必要である。IMPA2は、IMPA1とともに双極性躁鬱病の発症に関わると考えられている酵素である。IMPA1は、Liイオンによって活性を阻害されることが知られており、この現象が、Liイオン治療の分子メカニズムであると考えられている。構造解析の結果が発祥機構の解明や将来的に病気の治療などに役立つ可能性があると考えられる。活性に必要なMgイオンと共に結晶化したときの構造である。結晶系が異なる結晶である(結晶系は、P3121)。	
1086	conserved hypothetical protein TTHA1568		2CZL	on_hold		このタンパク質は配列保存機能未知タンパク質であり、構造解析をすることにより機能を推定できる可能性があると考えられる。 $\alpha$ ヘリックス、 $\beta$ シートを織り交ぜた特徴的な構造をしている。大小2つのドメインの間に基質結合部位と見られるポケットがあり、酒石酸が結合していた。	
1087	Lactate dehydrogenase like protein		2D0I	on_hold		NAD(P)依存性酸化還元酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。機能が同定できれば耐熱性酵素として利用できる。	
1088	indoleamin 2,3-dioxygenase		2D0T	on_hold		このタンパク質はトリプトファンの代謝における第一そして律速段階の酵素でありその活性は体内のトリプトファン濃度以外にも免疫システムやてんかん、睡眠リズムなどと間接的に関係しているため、薬物設計の対象ともなっている。活性阻害剤との結合型構造の解析により新規のフォールディングを持ち、ヘム周辺の環境も他のヘム酵素とは異なる特徴を持つことを明らかにした。この酵素の構造解析はヘム依存型の二原子酸素添加酵素としては初めての例である。	
1089	indoleamin 2,3-dioxygenase		2D0U	on_hold		このタンパク質はトリプトファンの代謝における第一そして律速段階の酵素でありその活性は体内のトリプトファン濃度以外にも免疫システムやてんかん、睡眠リズムなどと間接的に関係しているため、薬物設計の対象ともなっている。活性阻害剤との結合型構造の解析により新規のフォールディングを持ち、ヘム周辺の環境も他のヘム酵素とは異なる特徴を持つことを明らかにした。この酵素の構造解析はヘム依存型の二原子酸素添加酵素としては初めての例である。このサンプルはタンパク質のヘム鉄のリガンドとしてシアニドが結合した状態の解析であり、リガンドの交換による活性部位付近の構造変化が明らかとなった。	
1090	Putative ATP binding protein		2D13	on_hold	2006.2.12	Nタイプと呼ばれる新しいATPピロホスファターゼに相同性がある。機能が同定できれば耐熱性酵素として利用できる。	
1091	ST1889		2D1H	on_hold		ST1889は超好熱古細菌Sulfolobus tokodaii由来の機能未知タンパク質の一つである。アミノ酸配列に対するホモロジー検索の結果から、ST1889は、RNAポリメラーゼによる転写反応を調節している因子(転写因子)と推測されている。アミノ酸配列がST1889に類似しているタンパク質の多くはSulfolobus属由来なので、ST1889はSulfolobus属の典型的な転写因子であると思われる。ST1889のセレンメチオニ置換体のX線結晶構造を $\sim 2\text{\AA}$ の分解能で決定した。その結果、ST1889は、多くの転写因子と同様に、DNA結合ドメインを一つ有する二量体であった。興味深いことに、分子間はジスルフィド(S-S)結合で連結しており、分子内にもS-S結合が一箇所存在していた。細胞内は通常還元状態なので、細胞内タンパク質がS-S結合を有することは大変珍しい。ST1889は、細胞内の酸化還元の変化の応答して機能している転写因子であると推測できる。	
1092	Putative dehydrogenase		2D1Y	on_hold	2006.3.2	この解析ターゲットはNAD(P)を補酵素として様々なアルコールを酸化する酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。機能が同定できれば耐熱性酵素として利用できる。	
1093	Acyl-CoA dehydrogenase		2D29	on_hold		脂質代謝に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	
1094	Peptidyl-tRNA hydrolase II		2D3K	on_hold	2006.3.29	解析開始当初、機能未知蛋白質であったが、後に蛋白質合成時にフリーtRNAを再生する重要な酵素であることが判明した。今回は結晶系違いの構造を決定し、2量体構造の可変性と基質認識の関係について議論する。	

(別紙1.)

構造解析を行ったタンパク質について

\*成果の産業移転の対象タンパク質を特定することは契約違反となるため、‘成果の産業移転先(予定を含む)’の欄は空欄と致します。該当タンパク質数等につきましては成果報告シート4. (2)をご参照下さい。

番号	タンパク質名	ドメイン名	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)
1095	5-Carboxymethyl-2-hydroxyruconate semialdehyde dehydrogenase		2D4E	on_hold	2006. 4. 18	NAD (P) 依存性酸化還元酵素であり、ヒトを含む多くの生物種に存在する。機能が同定されれば耐熱性酵素として利用できる。	
1096	Fe-S binding reductase, putative (I68M mutant)		2D40	on_hold		本タンパク質は、溶液中・結晶構造でダイマーを形成し、hpa2 histone acetyltransferase (Gcn5-related-N-acetyltransferasesuperfamily)に構造 が類似していることがわかった。本タンパク質の機能は未知であるが、構造解析により、Gcn5-related N-acetyltransferase superfamily様の機能をもつ可能性が高まった。	
1097	Fe-S binding reductase, putative (wild type)		2D4P	on_hold		本タンパク質は、溶液中・結晶構造でダイマーを形成し、hpa2 histone acetyltransferase (Gcn5-related-N-acetyltransferasesuperfamily)に構造 が類似していることがわかった。本タンパク質の機能は未知であるが、構造解析により、Gcn5-related N-acetyltransferase superfamily様の機能をもつ可能性が高まった。	
1098	PH1109		2D59	on_hold		立体構造から機能を推定する方法論の確立に寄与する。	
1099	PH1109		2D5A	on_hold		立体構造から機能を推定する方法論の確立に寄与する。	
1100	Shikimate 5-dehydrogenase		2D5C	on_hold		必須芳香族アミノ酸の生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はシキミ酸結合状態の構造である。	
1101	Biotin carboxyl carrier protein		2D5D	on_hold		脂質生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。今回は結晶系違いの構造を決定し、構造の変異性について議論する。	
1102	ribulose-bisphosphate carboxylase large chain		2D69	on_hold		CO2をribulose-1,5-bisphosphateに付加し、3-phosphoglycerateと2-phosphoglycolateを生成する。植物のオーソログでは光合成の律速酵素である。	
1103	Shikimate 5-dehydrogenase		2EV9	on_hold		必須芳香族アミノ酸の生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。様々なリガンドとの複合体の構造も決定したので、反応機構に関する議論が可能である。本構造はNADP/シキミ酸結合状態の構造である。	
1104	Biotin carboxyl carrier protein		2EVB	on_hold		脂質生合成に関わる酵素であり、耐熱性酵素として利用できる。	