

5 - 5 タンパク3000プロジェクト 中核機関成果報告

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

1. 平成17年10月末におけるグループ全体の事業計画に対する事業の進捗状況の概要について

各グループの遺伝子ソースを集中してタンパク質の大量発現・精製・結晶化を行うための高エネ研に設置した中核施設および、長岡技大、昭和大において、X線結晶構造解析は順調に進んでいる。さらに、京都大学薬学部（加藤博章）と東京工業大学でも独立して結晶構造解析を進めている。これらを合わせると、現時点でPDBの登録数は109、PDB未登録を含めた構造解析の終了したタンパク質の数は155に達した。プロジェクト当初の目標数の70は既にはるかに超え、その後自主的に上方修正した目標数の150にもほぼ到達している。PDBの登録数こそ目標数に41必要であるが、構造解析済のPDB未登録数および現在進行中の構造解析数を勘案すると、来年度中にPDBの登録数で150に達するのは十分に可能である。

名古屋市立大で進めているNMR解析は、独立して構造解析を行うだけでなく、他の拠点とタンパク質の調製について情報交換を行う、複合体相互作用解析の強力なツールとしてNMRを用いた共同研究をX線解析グループや機能解析グループと行う、などで相乗的な効果を上げている。これら構造解析を主に行う拠点と、生体内での機能解析を主に行う拠点が有機的に共同研究体制を取る事によって、目的とする生命現象の解明は当初の予想通り着実に成果を上げつつある。NMRと同じく結晶構造を補完する測定法であるX線小角散乱についても、意図通りの成果が得られ始め成果を論文に投稿できる段階である。また、蓄積しつつある情報を活用する事で、バイオインフォマティクスがタンパク質機能の推定に活用されることが期待される。

機能解析についても、中野らによるCOPII輸送小胞の形成機構の解明（*Nature Struct. Mol. Biol.* 2005, 12, 167-）や、地神らによる糖鎖遺伝子改変型酵母を用いた医療用の活性のある酵素の生産についての研究（*Current Drug Targets*, in press）など、重要な成果が得られている。

2. グループにおけるタンパク質の構造解析について

	平成17年4月～平成17年10月末	(参考) 平成14年4月～平成17年3月末
(1)PDB登録数 ¹	68	41
(2)構造解析を終了したがPDB登録を保留しているタンパク質の数 ¹	6	17
(3)PDB登録の有無に関わらず構造解析を終了したタンパク質の数 ¹	78	77

3. 論文掲載数²

	平成17年4月～平成17年10月末	(参考) 平成14年4月～平成17年3月末
・件数	25	155

4. 成果の産業連携について³

	平成17年4月～平成17年10月末	(参考) 平成14年4月～平成17年3月末
(1)特許出願数(国内)	3件	8件
特許出願数(海外)	0件	3件

(2)成果の産業移転及び産学連携を目的とした共同研究の件数及び内容	<p>平成 17 年 4 月～10 月末： 11 件 ([参考]平成 14 年 4 月～平成 17 年 3 月末： 9 件)</p> <p>全自動タンパク質結晶化・観察システムのさらなる高機能化を行うための共同開発研究を行っている。また、複数の民間会社と平行して、創薬を目指した共同研究を行っている(高エネ研)。</p> <p>腫瘍細胞が分泌する育毛活性物質の産業移転に関する共同研究(京都産業大)。</p> <p>セミインタクト細胞チップを利用した、輸送阻害・活性化物質・ケミカルライブラリーの自動アッセイ・スクリーニング系の構築をバイオベンチャー企業および顕微鏡開発企業とともに準備中である(東大)。</p>
(3)成果の産業移転に関する具体的な例	<p>全自動タンパク質結晶化・観察システムは、共同開発研究で開発したプロトタイプが商品化され、既に 1 台が納入され稼働している(高エネ研)。</p> <p>立体構造解析について民間会社計 7 社と進めている共同研究契約では、創薬の基盤となる複数のタンパク質 薬剤複合体の立体構造を得ている(高エネ研)。</p> <p>糖鎖科学ベンチャー「グライエンス」の設立(名古屋市大)。</p>
(4)出願した特許の具体的な例	<p>アミノピリジン標識糖鎖の質量分析法(名古屋市大)。</p>

5. 本プロジェクトの推進に係る技術開発に関する成果について ⁴

(1) 高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・放射光科学研究施設(フォトンファクトリー)の全国共同利用ビームラインを、タンパク 3000 プロジェクトをはじめとする共同利用に供している。タンパク 3000 個別的解析プログラムについては、特別課題のもと全ビームタイムの約 30%を確保している。平成 15 年度から平成 17 年 12 月末までに計 156 日間のビームタイムを供給し、その成果として個別的解析プログラム全体で 387 の構造が解析された。

(2) また、これらビームラインの利便性とスループットの向上を目的として、以下の技術開発と基盤整備を行っている。

- ・平均的なデータ収集時間 20 分以内という世界最高水準の迅速なデータ収集を可能としたハイスループット MAD ビームライン (PF AR-NW12)、およびほぼ同程度の X 線強度で国内最大の CCD 型検出器を導入したビームライン (PF BL-5) の開発と整備を行った。また、既存のビームライン PF BL-6A の全面改良を行い、これら 3 本のビームラインの使用環境の統一化を図った。

- ・ビームタイムの効率的な利用のために、実験ハッチに実験者が出入りすることなくタンパク質結晶を連続して自動的にマウントしデータ収集を行うことのできる結晶マウントシステムの開発を米国スタンフォード放射光研究所の協力を得て行い、PF AR-NW12、PF BL-5 にその設置を行い、最終運用テストを行っている。

- ・これらと、統一データベースソフトとサーバーシステムの開発とを併せて、構造解析のさらなる効率化を図っている。

- ・1 日あたり 24 万以上の結晶化条件を検索する事の出来る全自動タンパク質結晶化・観察システムを開発し、それをを用いることで構造解析可能な結晶を得ている。

(3) 放射光施設を擁する中核機関では、これらビームラインを産学連携として企業と協力して共同研究に活用してきた。平成 17 年度には、複数の企業がビームラインを試験的に使用することで更にこの部分の産学連携を進めた。企業側の評価が非常に好評だったため、つくば独自の産業利用推進共同体(当初 9 社の予定)の発足と製薬協蛋白質構造コンソーシアムとの連携など、平成 18 年度以降も更にこの分野での産学連携を拡充する予定である。

(4) なごやしりつ大学において、多次元 HPLC マップ法を基盤とした糖鎖ライブラリー(様々な糖鎖構造をもつ糖鎖標準品のセット)を構築した。

(5) PDB にはタンパク質立体構造と各種の低分子との相互作用情報が大量に蓄積されており、この情報は、ある基質 / 阻害剤が結合するにはタンパク質表面にどのような特徴が必要かを知る重要なデータとなることを原研において見出した。本データは、共同研究者である郷通子教授によってインターネット上に公開されている (<http://daisy.nagahama-i-bio.ac.jp/golab/hetpdbnavi.html>)

(6) 東京大学において、セミインタクト細胞チップを利用した、輸送阻害・活性化物質・ケミカルライブラリーの自動アッセイ・スクリーニング系の構築をバイオベンチャー企業および顕微鏡開発企業とともに準備中である。

6 . タンパク質の機能解析に関する成果概要

(1) COPII 輸送小胞がどのような分子機構で積み荷タンパク質を選別するかは長い間解明されていなかった。中野らは、試験管内の系と蛍光エネルギー移動の測定系を用いて、Sar1p-GTPase がヌクレオチド交換因子である Sec12p によって何度も GTP 加水分解のサイクルを繰り返し、輸送小胞に取り込むタンパク質の選別を行っていることを新たに見出した (Nat Struct Mol Biol., 2005, 12, 167-)

(2) 糖転移酵素 GnT-V が癌の転移を促進する機構はまだ明らかでないが、大阪大学医学部の谷口らは、マトリプターゼの 772 番目のアミノ酸に GnT-V が付加する糖鎖がそのタンパク質の安定性を増大させ、それが癌転移の原因の一つであることを初めて明らかにした (Glycobiology 2004, 14, 139-)

(3) ユビキチン化されたレセプターがリソソームに運ばれる経路に、GGA が関与していることが示唆されるデータを得、ユビキチンと GGA3 C-GAT の複合体の結晶構造解析を行った。その結果、GGA3 の C-GAT ドメインとユビキチンの結合面と結合様式の詳細を明らかにした。また、同様の相互作用がユビキチンと Tom1 GAT の間にも存在することを見出し、その複合体の結晶構造を決定し相互作用様式を明らかにした。なお、本研究においては、結晶学的な制約から結合面の一部が覆われていたが、NMR を用いた相補的な研究により、相互作用機構を明らかにすることができた(FEBS Lett. 2005, 579, 5385-; Genes Cells. 2005, 10, 639-)

(4) エンドサイトーシスにおいて栄養物受容体がエンドソームからリソソームに送られ分解される過程で、モノユビキチン化が重要な役割を果たしている。その選別過程に関わる Hrs とユビキチンの複合体の結晶構造を決定した。その結果、Hrs-UIM は二つのユビキチン結合サイトを持つことが示された。これを元に結合部位に変異を導入し、結合実験を行った結果も Hrs-UIM が二つのユビキチンと相互作用できることを支持するものであった。さらに、この結合様式が一般的なものであるかについて他の UIM を用いて検証し、今回見出した新たな結合様式が広く使われていることを証明した (Nature Struct. Mol. Biol., in revision)

(5) エンドソームの膜融合を制御する Rab5 様低分子量 G タンパク質 Ara7 の立体構造を決定した。結晶構造中では二量体が観測されたが、ゲル濾過・X 線溶液散乱では単量体と二量体の混合平衡状態であることが分かった。酵素活性、変異体解析などの結果から、この平衡によってタンパク質機能の制御を行っているという全く新しいモデルを提案することができた。さらに Ara7 と Ara7-GEF の複合体の結晶構造も得ており、これらを併せて考察することで低分子量 GTPase の新しい制御機構についての分子レベルでの理解につながると期待している (Nature に投稿予定)

(6) 分泌経路を経る新生タンパク質は、N-結合型糖鎖の付加といった翻訳後修飾を受けた後、小胞輸送される。これらのタンパク質の選別は、膜貫通型レセプターによって行われていることが明らかになりつつある。最近、出芽酵母で見出された、小胞体 - ゴルジ体間の糖タンパク質レセプターとして機能していると考えられる Emp46p/47p について、その糖鎖認識ドメイン (CRD) 単体およびそれらのカリウム結合体の結晶構造を明らかにした。さらにこれらがカルシウムを結合しないことを示し、カルシウム非存在下でも糖鎖結合活性があるという、全く新しいレクチン様タンパク質であることを示した(EMBO J. 投稿中)

(7) 哺乳類由来のものとして初めてヒト由来シアリダーゼの立体構造を決定し、最も単純な阻害剤との複

合体の構造も決定することでその酵素反応機構について明らかにした(J. Bio. Chem., 2005, 280, 469)。今回、抗インフルエンザウイルス薬の候補である低分子化合物との複合体の立体構造を決定した。これによって、哺乳類由来シアリダーゼの立体構造にもとづいた基質分子認識機構と酵素反応機構とを明らかにすることができる。

(8) 抗腫瘍作用のあるガレクチンの糖鎖認識ドメインについて網羅的に構造解析を進め、現時点で、ガレクチン 4, 8, 9 について、それぞれ単体および糖結合複合体の構造を決定した。これらの比較により、以前より提唱されていたガレクチンへの一般的な糖鎖の結合様式は保存されていることが確認できたと共に、糖鎖の違いによる親和性の違いを構造学的に説明することができた。これらの知見より推定される重要なアミノ酸を置換した変異体ガレクチンも作成し、その結晶構造解析と糖への親和性の測定実験を進めている。

(9) 共同研究開始後 4 ヶ月でピフィズス菌由来の新奇フコシダーゼの結晶構造解析に成功し、得られた構造から今まで分かっていたいなかった活性中心のアミノ酸を推定し、変異体実験によりその推定が正しいことを示した。詳細な基質認識機構と酵素反応機構を明らかにするために、野生型および変異型と基質・阻害剤との複合体の構造解析を進めている。

(10) $\alpha 1, 6$ フコース転移酵素(FUT8)およびその産物は、癌の転移をはじめとする様々な生命現象に深く関与していることが示されている。これまでに確立した FUT8 の大量発現・調製系によって得られた結晶を用いて X 線結晶構造解析を行った。その結果、FUT8 は既知の糖転移酵素と全く異なる構造であることを明らかにした。現在、基質複合体の結晶構造解析を進めている。

(11) 受容体の糖鎖を認識するサイトカインである、がん細胞由来自己分泌型運動刺激因子 (AMF) とその複合体の立体構造解析を行った。これにより、新規 AMF 阻害剤 (がん転移抑制剤のリード化合物と成り得る) のデザインにつながる有用な知見を得ることができた。さらにその複合体の構造解析を進めている。

(12) クラスリンのアダプタータンパク質である GGA の溶液中での構造についての知見を得るために VHS-GAT マルチドメインについて X 線小角散乱測定を行い、今までのシングルドメインの結晶構造の知見と併せて、2 量体を形成している GGA タンパク質が VHS ドメインに標的分子が結合することによって、単量体へ解離することを初めて明らかにし、積極的にクラスリン小胞形成に関与する可能性を示した。

7. 平成 16 年度の評価に対する反映状況について

平成 16 年度評価では基盤技術開発に対しては高い評価を頂いたが、今年度においても、これまでの方針を展開させる方向でプロジェクトを進行させている。今後のタンパク質構造解析の進む方向の 1 つは、「複合体結晶」「微小結晶」であると考え、それに対応したマイクロフォーカスビームライン BL-17 を、平成 16 年秋に採択された JST 先端計測分析技術・機器開発事業「X 線 HARP を用いた生体超高分子構造機能解析装置」によって整備する作業を開始した。この建設のために BL-18B は閉鎖となったが、最新ビームライン AR-NW12、BL-5 に加え旧来のビームライン BL-6A の全面的改良を行い、これら 3 本のビームラインの高度化と運用を行った。これらについては、引き続きタンパク 3000 ユーザーにビームタイムの約 30% を確保するとともに、そのユーザー環境の向上の努力を続けている。

標的タンパク質については、平成 16 年度評価を受けて見直しを行い、より医薬および産業界に近い部分の強化を図ることとした。具体的には、都老人研の遠藤玉夫 (筋ジストロフィー原因タンパク質)、京大・生命の山本憲二 (ピフィズス菌特有のフコシダーゼ)、京都産業大の黒坂光 (病気に直結する O 型糖鎖の合成に関わる糖転移酵素) に新たにサブ拠点として加わって頂き、高エネ研と共同してそれらの構造機能解析を進めることとした。京大の山本教授との共同研究では、実質半年という短い間に、97 kDa という比較的大きな分子量のフコシダーゼの構造を決定することに成功している。また、既存の参画機関においても、既に進展が見られているテーマは継続しつつ、新規のターゲットとしては感染症 (イン

フルエンザウィルス、マラリア)、癌(糖転移酵素、サイトカイン)や、遺伝病(ポンペ病)の原因であるタンパク質、生物学的に極めて重要であるタンパク質(脂質輸送や低分子量 GTPase とその複合体)等に、対象の絞り込みを順次行っている。

PDB への登録が遅れ気味であるという指摘については、可能な限り決定できたタンパク質構造の登録を行った。未登録データについても速やかに登録を行うと共に、これらのデータを含む論文についても遅れずに発表するように努めたい。

当グループの機能解析拠点の多くは、構造解析中核である高エネ研との密接な共同研究体制下で、構造機能解析を進めている。ターゲットとしている真核生物由来のタンパク質については、発現・精製・結晶化の点で困難なものが多く、結果として必ずしも発表論文の数的側面については重要視してこなかった傾向がある。幸いなことに、本プロジェクトも終盤を迎えるにあたって、今まで難航していた重要な研究テーマの成果が得られつつあるが、今後も更なる努力を行いたい。

グループ内連携では、X 線結晶構造と NMR 解析を組み合わせ得られた成果として、既に 2 編の論文 (FEBS Lett. 2005, 579, 5385-; Genes Cells. 2005, 10, 639-) を出版した他、その他のテーマでも共同研究が進行中である。X 線小角散乱を組み合わせ共同研究も順調に進み、アダプタータンパク質 GGA については 2 編の論文が投稿直前で、低分子量 GTPase である Ara7 についてはその機能の制御機構を考察する上で不可欠な知見を与えており、この成果は近々に Nature 誌に投稿予定である。

8. 中核機関としての独自の目標(解析数、特許出願数等)に対する達成度、定期的な見直し体制等について。平成 16 年度及び平成 17 年度の再委託先一覧を含めること。

構造を決定したタンパク質の数は当初目標 70 を超え、自主的に定めた独自の目標数 150 に迫る勢いで達成度は極めて順調である。内容的にも、構造機能解析により未知の生命現象を明らかにするという方針は揺るぎのないもので、順次、学会や雑誌発表などを通じて成果を公表しつつある。若干遅れ気味であった PDB 登録と論文発表についても今年度は今までにない早いペースで進行している。今後も、迅速に成果発表を行っていききたい。達成度や研究体制の見直しは、細かくは日常的に行っているが、年度評価等を踏まえて来年度の推進体制の見直しを図りたい。

平成 16 年度及び平成 17 年度の再委託先一覧は次の通りである。

16 年度	17 年度	機関名	業務担当者	業務題目
中核	中核	高エネルギー加速器研究機構	若槻壮市	「タンパク質の個別的解析プログラム(翻訳後修飾と輸送)」
再委託	再委託	大阪大学 医学研究科	谷口直之	がん化と免疫系に関わる糖転移酵素群
再委託	再委託	大阪大学 理学研究科	長谷純宏	Zebrafish の胚に特異的に発現する糖転移酵素等に関する研究
再委託	再委託	京都大学 薬学研究科	川寄敏祐	神経系に特異的に発現する糖転移酵素群に関する研究
再委託	再委託	京都大学 薬学研究科	加藤博章	ペルオキシソーム挿入型膜タンパク質の輸送タンパク質装置の構造機能解明と膜タンパク質発現系構築への応用
再委託	再委託	京都大学 薬学研究科	中山和久	タンパク質のゴルジ体からの選別輸送機構に関する研究
再委託	再委託	理化学研究所 免疫アレルギー科学総合研究センター	大野博司	膜タンパク質の選別輸送制御因子の構造機能解析
再委託	再委託	長岡技術科学大学 生物系	野中孝昌	細胞内輸送と糖代謝に関連するタンパク質群の X 線結晶構造解析と溶液構造解析
再委託	再委託	東京大学 総合文化研究科	村田昌之	細胞内輸送のダイナミズム可視化及び関連タンパク質の構造・機能相関解析

再委託	再委託	名古屋市立大学 薬学 研究科	加藤晃一	タンパク質の細胞内における品質管理・輸送に 関わる糖鎖認識タンパク質の構造・機能解析
再委託	再委託	昭和大学 薬学部	田中信忠	創薬を目指した糖修飾と細胞内輸送に関わる タンパク質群の X 線結晶構造解析
再委託	再委託	理化学研究所 中央研 究所	中野明彦	酵母と高等植物の小胞輸送
再委託	再委託	日本原子力研究所 計 算科学技術推進センター	由良 敬	細胞内輸送と翻訳後修飾のバイオインフォマ ティクス
再委託	再委託	産業総合研究所 糖鎖 工学研究センター	地神芳文	糖ヌクレオチド代謝回路関連酵素群
再委託	再委託	奈良先端科学技術大学 院大学 物質創生科学 研究科	片岡幹雄	翻訳後修飾・輸送に関与するタンパク質のドメ イン配置構造の解析
再委託	再委託	東京工業大学 生命理 工研究科	深井周也	膜融合で働く繫留因子の結晶構造解析
	再委託	東京都老人総合研究所	遠藤玉夫	先天性筋ジストロフィーに係わる糖転移酵素 に関する研究
	再委託	京都産業大学 工学部 生物工学科	黒坂 光	ムチン型糖鎖生合成開始反応に関わる糖転移 酵素の構造と機能解析
	再委託	京都大学 大学院生命 科学研究科	山本憲二	有用腸内細菌が生産する新奇ファミリーに属 する糖分解酵素についての研究
	班友	立命館大学 糖鎖セン ター	川寄敏祐	糖転移酵素の生化学と生体機能解析
	班友	石川県立大学 生物資 源工学研究所	片山高嶺	糖鎖分解酵素の生化学的解析

9. 中核機関として、外部への広報、サブ機関を含むグループ内部での連携体制の確保をどのように実現しているか⁵

研究を推進するにあたっての本研究グループの枠組みは、機能解析に特化したグループが遺伝子材料と生物学的情報の提供を行い、それに基づいて構造解析グループが立体構造を決定し、その情報を基に機能解析グループと構造解析グループが共同して生物学的現象を明らかにする、という方針である。このように、本研究グループでは、高エネ研が中核機関として各サブ機関とサンプルや情報の交換を行うことで研究を進め、連携性もその中で確保していく方針で運営している。また、X 線結晶構造解析では得られない知見を得るために、NMR による複合体の相互作用解析、X 線小角散乱による溶液中での分子の形状解析、バイオインフォマティクスによるリガンド結合部位予測などを併せて行うことで、総合的に得られる研究結果をより重要なものにし、その過程で各サブ拠点の連携性も高エネ研が中核機関としてリーダーシップを発揮するよう留意している。

グループ全体の研究会議は今まで 1 年に 1 回開催してきたが、高エネ研を中心とする共同研究体制の中での打合せはより頻繁に行っている。日常的な情報交換はメールと電話で行うが、必要に応じ年に 2 回程度は直接に会って情報交換と議論を行うことで連携体制を確保している。

一方、放射光施設を擁する研究施設としての X 線ビームラインの高度化技術開発や運営については、本グループのみならず個別的解析プログラムに参加している研究者のニーズを可能な限り満足させるように、今まで全国共同利用をサポートしてきた経験を十全に生かして高エネ研がリーダーシップを持って行っている。放射光利用についての細かい情報については、電子メールとホームページの特性を生かしてきめ細かにユーザーおよび潜在ユーザーに発信している。

プロジェクト全体あるいは研究グループについての外部への情報発信としては、各種関係学会（分子生物学会、生化学会、結晶学会、放射光学会、蛋白質科学会など）やタンパク 3000 シンポジウムでの発表を通じ、また、代表者の若槻は 2005 年の 4 月～10 月に国際学会もしくは海外での招待講演が 15 件あり、それらを通じてその都度行っている。

10. 各年度の委託費 (百万円)	平成 14 年度	平成 15 年度	平成 16 年度	平成 17 年度	計
	310	716	301	290	1617

(別紙) 論文のリスト (グループとしての成果を表す代表的な論文 10~20 編程度)

Shiba T, Takatsu H, Nogi T, Matsugaki N, Kawasaki M, Igarashi N, Suzuki M, Kato R, Earnest T, Nakayama K, Wakatsuki S.
Structural basis for recognition of acidic-cluster dileucine sequence by GGA1.
Nature. 415, 937-41 (2002)
PDB: 1JWF, 1JWJ

Nogi T, Shiba Y, Kawasaki M, Shiba T, Matsugaki N, Igarashi N, Suzuki M, Kato R, Takatsu H, Nakayama K, Wakatsuki S.
Structural basis for the accessory protein recruitment by the gamma-adaptin ear domain.
Nat Struct Biol., 7, 527-31 (2002)
PDB: 1IU1

Tomoo Shiba, Masato Kawasaki, Hiroyuki Takatsu, Terukazu Nogi, Naohiro Matsugaki, Noriyuki Igarashi, Mamoru Suzuki, Ryuichi Kato, Kazuhisa Nakayama & Soichi Wakatsuki,
Molecular mechanism of membrane recruitment of GGA by ARF in lysosomal protein transport”,
Nature Structural Biology, 10, 386-393 (2003)
PDB: 1J2J, 1O3X, 1O3Y

Shinako Kakuda, Tomoo Shiba, Masji Ishiguro, Hideki Tagawa, Shogo Oka, Yasuhiro Kajiwara, Toshisuke Kawasaki, Soichi Wakatsuki and Ryuichi Kato,
J. Biol. Chem., **279**, 22693–22703 (2004).
PDB ID: 1V82, 1V83, 1V84

Chavas LM, Tringali C, Fusi P, Venerando B, Tettamanti G, Kato R, Monti E, Wakatsuki S.
J Biol Chem. 280, 469-75 (2005)
PDB ID: 1SNT, 1SO7, 1VCU

Kawasaki M, Shiba T, Shiba Y, Yamaguchi Y, Matsugaki N, Igarashi N, Suzuki M, Kato R, Kato K, Nakayama K, Wakatsuki S.
Molecular mechanism of ubiquitin recognition by GGA3 GAT domain.
Genes Cells. 7, 639-54. (2005)
PDB ID: 1WR6

Chang CI, Ihara K, Chelliah Y, Mengin-Lecreulx D, Wakatsuki S, Deisenhofer J.

Structure of the ectodomain of Drosophila peptidoglycan-recognition protein LCa suggests a molecular mechanism for pattern recognition.

Proc Natl Acad Sci U S A. 102, 10279-84. (2005)

PDB ID: 1Z6I

Ihara S, Miyoshi E, Nakahara S, Sakiyama H, Ihara H, Akinaga A, Honke K, Dickson RB, Lin CY and Taniguchi N, Addition of β 1-6 GlcNAc branching to the oligosaccharide attached to Asn 772 in the serine protease domain of matriptase plays a pivotal role in its stability and resistance against trypsin., *Glycobiology* **14**, 139-146(2004).

Saito T, Miyoshi E, Sasai K, Nakano N, Eguchi H, Honke K, Taniguchi N.

A secreted type of β 1,6-N-acetylglucosaminyltransferase V (GnT-V) inducestumor angiogenesis without mediation of glycosylation: a novel function of GnT-V distinct from the original glycosyltransferase activity.,

J. Biol. Chem. **277**, 17002-17008(2002).

Ihara S, Miyoshi E, Ko JH, Murata K, Nakahara S, Honke K, Dickson RB, Lin CY, Taniguchi N, Prometastatic effect of

N-acetylglucosaminyltransferase V is due to modification and stabilization of active matriptase by adding β 1-6 GlcNAc branching.,

J. Biol. Chem. **277**,16960-16967(2002).

Ishimizu T, Sasaki A, Okutani S, Maeda M, Yamagishi M, Hase S.

J. Biol. Chem. 279, 38555–38562 (2004).

Uzumaki, T., Fujita, M., Nakatsu, T., Hayashi, F., Shibata, H., Itoh, N., Kato, H., Ishiura, M.,

Crystal structure of the C-terminal clock-oscillator domain of the cyanobacterial KaiA protein, Nat Struct Mol Biol 623-31 (2004).

PDBID: 1V2Z

Mitsunari, T. Nakatsu, F., Shioda, N., Love, P.E., Grinberg, A., Bonifacino, J.S., Ohno, H.:

Clathrin adaptor AP-2 is essential for early embryonal development.

Mol. Cell. Biol. 25 (21): 9318-9323, 2005

Watanabe, T., Ariga, Y., Sato, U., Toratani, T., Hashimoto, M., Nikaidou, N., Kezuka, Y., Nonaka, T., and Sugiyama, J.
Aromatic residues within the substrate-binding cleft of *Bacillus circulans* chitinase A1 are essential for hydrolysis of crystalline chitin.
Biochemical J., **376**, 237-244 (2003).

Kano, F, Tanaka, A.R., Yamauchi, S., Kondo, H., and Murata, M.,
Cdc2 kinase-dependent disassembly of endoplasmic reticulum (ER) exit sites inhibits ER-to-Golgi vesicular transport during mitosis,
Mol. Biol. Cell, 15, 4289-4298, 2004

Sakata E, Yamaguchi Y, Kurimoto E, Kikuchi J, Yokoyama S, Yamada S, Kawahara H, Yokosawa H, Hattori N, Mizuno Y, Tanaka K and Kato K,
EMBO reports **4**, 301-306 (2003)
PDB ID: 1IYF

Tanaka, N.*, Haga, A., Uemura, H., Akiyama, H., Funasaka, T., Nagase, H., Raz, A., & Nakamura, K.T.*
Inhibition mechanism of cytokine activity of human autocrine motility factor examined by crystal structure analyses and site-directed mutagenesis studies.
J. Mol. Biol. **318**, 985-997 (2002).
PDB ID: 1JIQ, 1IRI

Tanaka, N.*, Kusakabe, Y., Ito, K., Yoshimoto, T., & Nakamura, K.T.*
Crystal structure of formaldehyde dehydrogenase from *Pseudomonas putida*: the structural origin of the tightly bound cofactor in nicotinoprotein dehydrogenases.
J. Mol. Biol. **324**, 519-533 (2002).
PDB: 1KOL

Tanaka, N.*, Nakanishi, M., Kusakabe, Y., Shiraiwa, K., Yabe, S., Ito, Y., Kitade, Y., & Nakamura, K.T.
Crystal structure of *S*-adenosyl-L-homocysteine hydrolase from the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*.
J. Mol. Biol. **343**, 1007-1017 (2004).
PDB: 1V8B

Sato K, Nakano A (2005).
Nature Mol. Struct. Biol. **12**:167-174.

Yamaguchi, A., Iida, K., Matsui, N., Tomoda, S., Yura, K., and, Go, M.: Het-PDB Navi. :
A database for protein-small molecule interactions.
J. Biochem. (Tokyo) **135**:79-84 (2004).

Sakuraba, H., Sawada, M., Matsuzawa, F., Aikawa, S., Chiba, Y., Jigami, Y., and Itoh, K.
Molecular pathologies of and enzyme replacement therapies for lysosomal diseases.
Current Drug Targets, in press.