

多量体タンパク質構造解析研究チーム

Oligomeric Protein Crystallography Team

チームリーダー 国島 直樹

KUNISHIMA, Naoki

当チームでは、多量体で機能するタンパク質に焦点を当て、タンパク 3000 プロジェクトの一環として結晶構造解析を用いた構造ゲノムの研究及び関連技術開発を行っている。多量体形成の生物学的役割の体系的理解を目指すため、我々は大規模な構造解析の結果得られる数多くの結晶構造を比較する手法をとっている。また、大規模構造解析を効率良く行うために、自動解析システム・構造評価システム・回折チェックロボット等の新技術を開発している。我々はこれらの研究及び技術開発を通じて構造ゲノム科学とその産業応用に貢献したいと考えている。

1. 構造ゲノム科学的観点からのオリゴマー蛋白質の研究

オリゴマー状態で機能する蛋白質の結晶構造解析を行い、蛋白質機能とオリゴマー状態との相関関係を体系的に研究した。今年度当チームでは、高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 および超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来蛋白質の網羅的構造解析を進め、73 件の PDB 登録を行った(担当者:国島、浅田、Bagautdinov、Lokanath、水谷、清水、菅原、山本)。

(1) PaaI 蛋白質の非対称誘導適合反応機構(国島、浅田、菅原)

多くの蛋白質は外的刺激を受けてその立体構造に変化を起こし、その構造変化が各々の蛋白質に特有の機能を発揮させるための引き金になっている。蛋白質の構造変化と機能の因果関係を明らかにすることは病気などのメカニズム解明に必須なステップであるが、結晶構造解析などで観測される構造変化は多くの場合ごくわずかである。従って、これまでは幸運にして大きな構造変化が観測される場合にしかメカニズム解明ができなかった。我々は、蛋白質の構造変化をとらえる「多重重ね合わせ法」を開発し、エイズウイルス(HIV)の感染に関わる蛋白質に良く似た蛋白質「アシルコエンザイムAチオエステラーゼ PaaI」の微妙な構造変化を捉えることに成功した。新しいエイズ(AIDS)治療薬の開発につながると考えている(Kunishima *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **352**, 212-228)。

(2) NADP 依存性脱水素酵素 HIBADH の結晶構造(Lokanath)

バリンの中心的な代謝中間体である 3-ヒドロキシイソ酪酸は、3-ヒドロキシイソ酪酸脱水素酵素(HIBADH)と呼ばれる特異的な脱水素酵素によりメチルマロン酸セミアルデヒドへと可逆的に酸化される。その酵素反応メカニズムを原子レベルで明らかにするため、我々は*Thermus thermophilus* HB8 由来HIBADHの結晶構造を決定した。本結晶構造では、特徴的な4量体の会合様式や補因子NADP⁺の結合が見つかった。これは真核生物由来HIBADHがNADを補因子とするのと対照的であり、バクテリア酵素はNADPを補酵素として好むことが新たに確かめられた。また、4量体の隣り合ったサブユニットが活性部位を形作っていることから、観察されたオリゴマー構造は酵素機能に重要であると考えられる。さらに、本研究で得られた構造的および生化学的証拠からHIBADHの活性残基がLys165

であることが確かめられた(Lokanath *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **352**, 905-917)。

(3) ビオチンプロテインリガーゼの結晶構造(Bagautdinov)

ビオチン蛋白質リガーゼ(BPL)は、様々な生物において脂質生合成の最初の段階、すなわちアセチル CoA カルボキシラーゼの特異的なリジン残基をビオチンで翻訳後修飾する反応を触媒する重要な酵素である。我々は*Pyrococcus horikoshii* OT3 由来BPLの結晶構造を決定した。さらに様々なリガンド(ビオチン・ADP・ビオチニル5' AMP)との複合体の構造決定も行い、本酵素の反応中間体を視覚化することに初めて成功した。リガンド結合はBPLの活性部位ループ部のオーダー・ディスオーダー転移と共役していた。これらの結果に基づいて、我々はBPLによるビオチン活性化機構を提唱した(Bagautdinov *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **353**, 322-333)。

(4) 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の結晶構造(菅原)

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(PEPCK)の誘導適合機構および耐熱化機構を明らかにするため、我々は*Thermus thermophilus* HB8 由来酵素(TtPEPCK)の結晶構造を決定し、結晶構造が報告されている他の常温生物由来酵素と比較した。これら PEPCK のオルソログは、open/closed のドメイン間配置を持つ良く似たプロトマー構造を共通して持っていた。さらにリガンドである ATP との複合体の結晶構造も決定し、本酵素の 'conformational selection' と呼ばれる誘導適合機構を明らかにすることに初めて成功した。また、TtPEPCK の耐熱化に寄与すると考えられる因子として、N末端ドメイン内に見つかった結合カルシウム・疎水の相互作用・イオン結合・エントロピー効果が示唆された(Sugahara *et al.* (2005) *Acta Crystallogr. D* **61**, 1500-1507)。

(5) X線構造解析と示差走査熱量計を用いたトリプトファン合成酵素αサブユニットの安定化機構の検討(浅田)

高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来トリプトファン合成酵素のαサブユニット(Tt-α-subunit)の安定化機構を検討するために、結晶構造解析と示差走査熱量計による測定を行い、既に報告されている常温菌 *S. typhimurium* と超好熱菌 *P. furiosus* のトリプトファン合成酵素・サブユニット(St-α-subunit, Pf-α-subunit)と比較検討した。示差走査熱量計による測定の結果、Tt-α-subunit の変性温度は、

St- α -subunit よりも高く *Pf*- α -subunit よりも低かった。しかしながら *Tt*- α -subunit のエンタルピーと熱容量は、これらのタンパク質の中で一番小さな値となった。このことから *Tt*- α -subunit ではエントロピー効果が安定性に寄与していることが示唆された。結晶構造解析から、*St*- α -subunit と比較すると、ループ領域の欠失、イオン結合の増加、キャビティー容量の減少が見られた。これらの要因もまた *Tt*- α -subunit の安定化に寄与していると考えられる (Asada *et al.* (2005) *J. Biochem.* **138**, 343-353)。

(6) マロニル-CoA : ACP アシル転移酵素の結晶構造解析 (岬^{*1})

製薬協蛋白質構造解析コンソーシアムは、タンパク 3000 プロジェクトの一環として、*Thermus thermophilus* HB8 由来マロニル-CoA : ACP アシル転移酵素 (MCoA-ACPT) の結晶構造解析を理研と共同で行った。MCoA-ACPT は、微生物の脂肪酸生合成においてマロニル-CoA のマロニル基を ACP に転移する酵素である。高等動物においてこのマロニル基転移反応は別の酵素で触媒されることから、MCoA-ACPT は抗生物質の開発ターゲットとして有望である。本構造は既に報告されている大腸菌由来 MCoA-ACPT の結晶構造座標を基に分子置換法 (Molrep) で決定した。本研究は耐熱生物由来 MCoA-ACPT の結晶構造に関する最初の報告である。本研究で得られた耐熱性 MCoA-ACPT の活性部位の立体構造は、MCoA-ACPT 酵素機能の解明および有用な阻害剤の設計について重要な示唆を与えた (Misaki *et al.* (2005) XX Congress of the International Union of Crystallography, Florence, Italy)。

2. 構造ゲノム科学推進のための技術開発

ソフトウェア開発 (国島、浅田、菅原、高^{*1})

構造解析効率化のためのソフトウェア開発として、前年度開発した自動解析システム・構造評価システム・重原子検索システムの高度化を行った。また、研究者による試験的運用を行い、今後の解析未経験者による運用に備えた。

自動解析システムは、当グループで標準化された解析手順を自動化することにより、経験の浅い担当者でも正しい手順で解析ができるようにすることを目的としたシステムであり、位相計算・自動モデル構築・構造精密化を視野に入れている。これらの機能は X 線構造解析・計算機に関する最小限の知識で操作できる。また手順が規格化されていることから、指導者による助言が容易になる。平成 17 年度は、現在最も手間のかかっているモデルチェック作業の効率化を行った。このモデルチェック機能により、アミノ酸配列の確認・立体化学的妥当性の確認・結合水の妥当性の確認・水素結合など非共有結合相互作用の妥当性の確認が自動的に行える。PDB 登録前のモデル確認のみならず、経験が十分でない解析担当者が構造精密化を効率的に進めるためにも役立つ。

構造評価システムは、解析された結晶構造から論文作成等に必要の構造評価基礎データを自動的に作成することにより、研究者による同作業を効率化することを目的としたシステムである。今まで研究者が手間と時間をかけて行っていた構造評価作業が効率化できる。また、将来的にタンパク質の耐熱性や結晶性などのタンパク工学的手法による改善技術の開発基盤となることが期待される。平成 17 年度は、現在最も手間のかかっているタンパク質の分子

表面解析、すなわち、パターン分析 (保存度・疎水性・電荷等の分子表面における分布の評価) および結晶パッキング評価の自動化を行った。

重原子検索システムは、既知の重原子誘導体をデータベース化することにより、経験の浅い担当者でも実験すべき重原子試薬が簡単に検索できるようにすることを目的としたシステムである。H17 年度は、ホモロジーモデリング・二次構造予測・重原子結合モチーフ等を考慮した検索を導入することによる高度化を行った。その結果、候補の重原子試薬に成功期待値 (スコア) が付くため、そのスコア順に重原子化実験を行うことでより効率的な重原子誘導体作成が可能になった。また、論文発表 (Sugahara *et al.* (2005) *Acta Crystallogr. D* **61**, 1302-1305) および、本システムの WEB での公開 (<http://hatodas.harima.riken.go.jp/>) を行った。

^{*1} 客員研究員

As a part of the protein 3000 project, we perform the structural genomics oriented study on the structure-function relationship of oligomeric proteins and undertake relevant technological development. Through these research and development, we would like to contribute the structural genomics and the relevant industrial application.

1. Study on Protein Oligomerization from a View Point of Structural Genomics

In order to obtain the systematic understanding for the biological role of protein oligomerization, we compare the huge number of crystal structures from the large-scale structural analysis. In this fiscal year, we performed structural determination of 73 proteins from thermophilic organisms.

(1) A novel induced-fit reaction mechanism of asymmetric hot dog thioesterase Paal (Kunishima *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **352**, 212-228). Here we developed a new method to describe the conformational change precisely and succeeded to capture a subtle conformational change of 'acyl-CoA thioesterase Paal' which had a similarity with a protein relevant to the HIV infection.

(2) Crystal structure of novel NADP-dependent 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HB8 (Lokanath *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **352**, 905-917). 3-Hydroxyisobutyrate, a central metabolite in the valine catabolic pathway, is reversibly oxidized to methylmalonate semialdehyde by a specific dehydrogenase, 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase (HIBADH). To gain insight into the function of this enzyme at atomic level, we have determined the first crystal structures of HIBADH from *Thermus thermophilus* HB8.

(3) Crystal structures of biotin protein ligase from *Pyrococcus horikoshii* OT3 and its complexes: structural basis of biotin activation (Bagautdinov *et al.* (2005) *J. Mol. Biol.* **353**, 322-333). Biotin protein ligase (BPL) catalyzes the first committed step of lipid biosynthesis in various organisms, where a specific lysine residue of the acetyl-CoA carboxylase is posttranslationally modified by biotin. Here, we present the crystal structure of the BPL from *Pyrococcus horikoshii* OT3. The determination of the complex structures with biotin, ADP, and biotinyl-5'-AMP provided the first exact location of the activated intermediates.

(4) Structure of ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinase from *Thermus thermophilus* HB8 showing the structural basis of induced fit and thermostability (Sugahara *et al.* (2005) *Acta Crystallogr. D* **61**, 1500-1507). In order to understand the induced-fit and the thermo-stabilization mechanisms of the ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinase, the crystal structure of the enzyme from *Thermus thermophilus* HB8 (TtPEPCK) was determined and compared to those of orthologues of known structure from two mesophilic organisms.

(5) Stabilization mechanism of tryptophan synthase α -subunit from *Thermus thermophilus* HB8: X-ray crystallographic analysis and calorimetry (Sugahara *et al.* (2005) *J. Biochem.* **138**, 343-353). In order to elucidate the thermo-stabilization mechanism of the tryptophan synthase α -subunit from the extreme thermophile *Thermus thermophilus* HB8 (Tt- α -subunit), its crystal structure was determined and its stability was examined using DSC.

(6) Crystal structure of MCoA-ACPT from *Thermus thermophilus* HB8 (Misaki *et al.* (2005) XX Congress of the International Union of Crystallography, Florence, Italy). As a part of Protein 3000 project in Japan, joint research group of PCprot has solved the crystal structure of malonyl-CoA:ACP transacylase (MCoA-ACPT) from *Thermus thermophilus* HB8 by collaboration with RIKEN. The obtained three-dimensional structure of the active site of thermostable MCoA-ACPT provides insights into the enzyme mechanism and the design of useful inhibitors.

2. Technological Development for Structural Genomics

Software development

We enhanced the automated analysis system, the structure evaluation system, and the heavy-atom database system. *Heavy-atom Database System (HATODAS)* (<http://hatodas.harima.riken.go.jp/>) is a web based tool designed to assist the heavy-atom derivatization of proteins. Conventional procedure for the preparation of derivatives is usually a time consuming 'trial and error' process. The present program provides a solution for this problem using a database of known heavy-atom derivatives (Sugahara *et al.* (2005) *Acta Crystallogr. D* **61**, 1302-1305).

Staff

Head

Dr. Naoki KUNISHIMA

Members

Mr. Yukuhiko ASADA
Dr. Bagautdin, BAGAUTDINOV
Dr. Neratur LOKANATH
Dr. Hisashi MIZUTANI
Dr. Katsumi SHIMIZU
Dr. Michihiro SUGAHARA
Mr. Hitoshi YAMAMOTO

Technical Staff

Mr. Yuichi KAGEYAMA
Mr. Mitsugu KOSAKA

Mr. Yoshinori MATSUURA
Ms. Yuko MISUMI
Mr. Hiroshi MIWA
Mr. Takanobu NAKAMOTO
Dr. Yoichi NOBUHARA
Ms. Naoko ONO
Mr. Hiroki SHIMADA
Ms. Yoshiko TERAOKA
Ms. Ayako YOSHIDA

Visiting Members

Mr. Masahiko BANDO (Otsuka Pharm. Co., Ltd)
Dr. Khoo-Tee CHONG (Taiho Pharm. Co., Ltd)
Dr. Shoko FUJIMOTO (Eisai Co., Ltd)
Dr. Akira HARA (Gifu pharmaceutical Univ.)
Mr. Tatsuya HORIO (Nippon Shinyaku Co., Ltd)
Ms. Maki KUMEI (TANPAKU Consortium)
Dr. Shintaro MISAKI (Shionogi Co., Ltd)
Dr. Makoto MIYATA (Osaka City Univ.)
Dr. M.R.N. MURTHY (Indian institute of Science, Bangalore, India)
Dr. Chikahiro NAGATA (Daiichi Pharm. Co., Ltd)
Mr. Yuichiro NAKAISHI (Otsuka Pharm. Co., Ltd)
Dr. Masahiro SAKURAI (Eisai Co., Ltd)
Mr. Ikuya SHIROMIZU (Mochida Pharm. Co., Ltd)
Dr. Shigetoshi SUGIO (Mitsubishi Pharma Corp.)
Dr. Kenji SUZUKI (Dainippon Pharm. Co., Ltd)
Mr. Hideyuki TAKA (Hitachi Software Engineering Co., Ltd)
Ms. Izumi WADA (TANPAKU Consortium)

Trainee

Mr. Satoshi IIMURA (Kwansei Gakuin Univ.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

- Yokoyama T., Chong K., Miyazaki G., Morimoto H., Shih D. T., Unzai S., Tame J. R., and Park S. : "Novel mechanisms of pH sensitivity in tuna hemoglobin: A structural explanation of the root effect", *J. Biol. Chem.* **279**, No. 27, pp.28632--28640 (2004). *
- Sugahara M., Asada Y., Ayama H., Ukawa H., Taka H., and Kunishima N. : "*Heavy-atom Database System*: a tool for the preparation of heavy-atom derivatives of protein crystals based on amino-acid sequence and crystallization conditions", *Acta Cryst. D* **61**, 1302--1305 (2005). *
- Sugahara M., Ohshima N., Ukita Y., Sugahara M., and Kunishima N. : "Structure of ATP-dependent phosphoenolpyruvate carboxykinase from *Thermus thermophilus* HB8 showing the structural basis of induced fit and thermostability", *Acta Cryst. D* **61**, 1500--1507 (2005). *
- Lokanath N. K., Yamamoto H., Matsunaga E., Sugahara M., and Kunishima N. : "Purification, crystallization and initial X-ray crystallographic analysis of the putative GTPase PH0525 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", *Acta Cryst. F* **61**, 892--894 (2005). *
- Taka J., Ogasahara K., Jeyaraman J., Kunishima N., Kuroishi C., Sugahara M., Yokoyama S., and Yutani K. : "Stabilization due to dimer formation of phosphoribosyl anthranilate isomerase from *Thermus thermophilus* HB8:

- X-ray analysis and DSC experiments", J. Biochem. 137, No. 5, pp.569--578 (2005). *
- Asada Y., Sawano M., Ogasahara K., Nakamura J., Ota M., Kuroishi C., Sugahara M., Yutani K., and Kunishima N.: "Stabilization mechanism of the tryptophan synthase α -subunit from *Thermus thermophilus* HB:8 X-ray crystallographic analysis and calorimetry", J. Biochem. 138, No. 4, pp.343--353 (2005). *
- Kunishima N., Asada Y., Sugahara M., Ishijima J., Nodake Y., Sugahara M., Miyano M., Kuramitsu S., Yokoyama S., and Sugahara M.: "A novel induced-fit reaction mechanism of asymmetric hot dog thioesterase Paal", J. Mol. Biol. 352, 212--228 (2005). *
- Lokanath N. K., Ohshima N., Takio K., Shiromizu I., Kuroishi C., Okazaki N., Kuramitsu S., Yokoyama S., Miyano M., and Kunishima N.: "Crystal structure of novel NADP-dependent 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HB8", J. Mol. Biol. 352, 905--917 (2005). *
- Bagautdinov B., Kuroishi C., Sugahara M., and Kunishima N.: "Crystal structures of biotin protein ligase from *Pyrococcus horikoshii* OT3 and its complexes: structural basis of biotin activation", J. Mol. Biol. 353, 322--333 (2005). *

口 頭 発 表 Oral Presentations
(国際会議等)

- Suzuki K., Misaki S., Shiromizu I., Takimoto-Kamimura M., Bando M., Kunishima N., Nodake Y., Sugahara M., and Nishijima K.: "Crystal structure of MCoA-ACPT from *Thermus thermophilus* HB8", 20th Congress of the International Union of Crystallography (IUCr2005), Florence, Italy, Aug. (2005).
- Bagautdinov B., Kuroishi C., Sugahara M., and Kunishima N.: "Crystal structure of the biotin protein ligase from *Pyrococcus horikoshii* OT3: insights into the mechanism of biotin activation", 20th Congress of the International Union of Crystallography (IUCr2005), Florence, Italy, Aug. (2005).
- Lokanath N. K., Ohshima N., Takio K., Shiromizu I., Kuroishi C., Okazaki N., Kuramitsu S., Yokoyama S., Miyano M., and Kunishima N.: "Crystal structure of the NADP-dependent 3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase", 20th Congress of the International Union of Crystallography (IUCr2005), Florence, Italy, Aug. (2005).
- Iimura S., Ogasahara K., Noda Y., Segawa S., and Yutani K.: "Kinetic stabilization of pyrrolidone carboxyl peptidase from a hyperthermophile", International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2005), Honolulu, USA, Dec. (2005).

(国内会議)

- 飯村 哲史, 小笠原 京子, 野田 康夫, 瀬川 新一, 油谷 克英: "超好熱菌由来のpyrrolidone carboxyl peptidaseの速度論的安定化のメカニズム", 第5回日本蛋白質科学会年会, 福岡, 6--7月 (2005).
- 岬 真太郎, 鈴木 健司, 白水 郁也, 上村 みどり, 板東 政彦, 桑井 麻希, 和田 いづみ, 国島 直樹, 野嶽 勇一, 菅原 光明, 西嶋 和三: "Crystal structure of MCoA-ACPT from *Thermus thermophilus* HB8", 理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第4回連携研究会, 播磨, 8月 (2005).
- Bagautdinov B., Sato Y., 菅原 光明, 国島 直樹: "Crystal structures of shikimate 5-dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HB8 and its cofactor and substrate complexes: insights into the enzymatic mechanism", 理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第4回連携研究会, 播磨, 8月 (2005).
- 菅原 道泰, 浅田 征彦, 阿山 晴彦, 卯川 尚史, 高 秀幸, 国島 直樹: "Heavy-atom database system: a tool for the preparation

- of heavy-atom derivatives of protein crystals based on amino acid sequence and crystallization condition", 理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第4回連携研究会, 播磨, 8月 (2005).
- 仲野 徳, 桑井 麻希, 稲垣 栄二, 田中 智之, 新海 ふじ江, 倉光 成紀, 瀧尾 擴士, 新海 暁男, 横山 茂之: "*Thermus thermophilus* HB8由来TT0972タンパク質の構造", 理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第4回連携研究会, 播磨, 8月 (2005).
- 岡崎 伸生, 仲野 徳, 桑井 麻希, 佐藤 伸哉, 満足 美穂, 倉光 成紀, 白水 美香子, 新海 暁男, 横山 茂之: "*Thermus thermophilus* HB8由来機能未知タンパク質TT1045, およびTT1515のX線結晶構造解析", 理研シンポジウム「高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト」第4回連携研究会, 播磨, 8月 (2005).
- 飯村 哲史, 梅畚 太郎, 八木 宏昌, 小笠原 京子, 阿久津 秀雄, 野田 康夫, 瀬川 新一, 油谷 克英: "NMRによる超好熱菌由来蛋白質の異常に遅いフォールディング機構の解明: NMRスペクトルの帰属とHD交換反応", 第43回日本生物物理学会年会, 札幌, 11月 (2005).
- 国島 直樹: "構造ゲノミクス推進のための自動結晶構造解析ソフトの開発", 創薬産業BL成果発表会記念シンポジウム, (蛋白質構造解析コンソーシアム), 大阪, 12月 (2005).
- 岡崎 伸生, 菅原 光明, 仲村 勇樹, 田中 智之, 桑井 麻希, 宮野 雅司, 横山 茂之: 第6回計測自動制御学会システムインテグレーション部門講演会(SI2005), 熊本県西合志町, 12月 (2005).
- 山本 等, 三輪 洋司, 国島 直樹: "*Thermus thermophilus* HB8由来のグルコース-6-ホスフェートイソメラーゼの結晶構造", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- 清水 勝美, 藤本 弥生, 菅原 光明, 国島 直樹: "*Pyrococcus horikoshii* OT3 由来の推定ペプチジル-tRNA 加水分解酵素の結晶構造", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- Bagautdinov B., Sato Y., 国島 直樹: "Crystal structures of shikimate 5-dehydrogenase from *Thermus thermophilus* HB8 and its cofactor and substrate complexes", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- 菅原 道泰, 国島 直樹: "タンパク質結晶スクリーニングのための汎用クライオプロテクタント", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- 浅田 征彦, 澤野 雅英, 小笠原 京子, 中村 順司, 太田 元規, 黒石 千寿, 菅原 光明, 油谷 克英, 国島 直樹: "X線構造解析と示差走査熱量測定(DSC)を用いた高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来トリプトファン合成酵素 α サブユニットの安定化機構の検討", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- 水谷 尚志, 国島 直樹: "高度好熱菌由来HpcCの結晶構造", 日本結晶学会2005年度年会および総会, 姫路, 12月 (2005).
- 山本 雅貴, 新海 暁男, 国島 直樹: "X線関連技術", 文部科学省タンパク3000プロジェクト 第3回産学連携フォーラム, 東京, 2月 (2006).