

システム生物学統合研究チーム

Functomics Integration Research Team

チームリーダー 倉光 成紀

KURAMITSU, Seiki

当チームでは、高度好熱菌細胞全体を理解するためのシステム生物学的研究を進めている。そのためには高度好熱菌の持つあらゆる蛋白質を調製する必要があり、膜蛋白質を含めたそれら全蛋白質の大量発現法の確立を試みた。並行して、システム生物学的研究の雛型として DNA 修復系の網羅的な構造機能解析を行い、高度好熱菌が本研究のモデル生物として適していることを確認した。さらに、細胞全体のシステム生物学的研究にむけて、あらゆる生物に共通で基本的生命現象に関与する機能未知蛋白質の機能発見研究を行ってきた。機能発見研究には、立体構造情報、DNA マイクロアレイ、遺伝子破壊株の表現型や蛋白質発現の網羅的解析といった手法を効果的に用いた。また、得られた情報やリソースについては、国内外の機関への公開に努めた。

1. 蛋白質の網羅的発現・精製と調製技術の向上 (倉光、佐藤、北村、井上、浮田、松浦、松本、大森、西田、柳梁、有馬)

当チームでは、前年度までに約 2,000 種類の蛋白質量産化プラスミドを作製しており、本年度もこれらのプラスミドを用いて大腸菌 BL21(DE3) 株などを宿主細胞とし、蛋白質の大量発現を行った。現在までに、約 1,500 種類の蛋白質の大量発現に成功し、約 950 種類の蛋白質の精製を完了している。

当グループを中心とするこれまでの成果により、*T. thermophilus* HB8 の全 ORF (蛋白質) のうち、21% (約 460 種類) について、立体構造が決定された。その結果、プロジェクト開始から 8 年目で、本高度好熱菌はもっともタンパク質の立体構造解析の割合が高い生物種となった。様々な工夫をしつつ立体構造解析を継続しているが、現在の蛋白質調製と立体構造解析の技術では、25~30% の成功率が限界に近いと考えられる。そこで、新たな蛋白質調製法や結晶化技術の向上が必要となる。

ほとんどの生物種において、全蛋白質の 20~30% が膜蛋白質であり、それらは呼吸や細胞内の恒常性の維持など生命活動に非常に重要な働きをしていると考えられている。そのため、細胞まるごと一匹の生命現象の理解には、膜蛋白質の発現と結晶化が不可欠である。そこで、Mistic と呼ばれる膜蛋白質と融合させた形で目的蛋白質を発現させる事で発現の向上を試みた。その結果、試みた 15 種類の膜蛋白質のうち、10 種類 (約 70%) において、良好な発現が見られ、この技術を高度好熱菌に適用できることを確かめた。今後、膜蛋白質を含めた立体構造解析を進めていく。

2. DNA 修復系蛋白質を中心とした構造機能解析 (倉光、福井^{*1}、齋藤^{*1}、近藤^{*1}、落海^{*1}、森田^{*1}、富山^{*1})

高度好熱菌をモデル生物としたシステム生物学的研究の雛型として、DNA 修復システムの集中的な解析を行っている。生物は様々な種類の DNA 修復システムを備えているが、そのほとんどはバクテリアからヒトまで共通の反応機構であるため、DNA 修復システムの基礎研究は医

学への応用にも繋がると期待される。我々はこれまでに、重要な DNA 修復酵素の立体構造を決定し、分子機能解析もおこなってきたが、DNA 修復システムにおいては、未だに多くの機能未知蛋白質の関与が示唆されているとともに、各分子の反応機構にも未解明の点が多い。そこで、立体構造解析から得られる知見を基に、機能未知蛋白質の中から DNA 修復活性を持つものを発見し、さらに、得られた蛋白質群を用いて DNA 修復システムについて、原子分解能での反応機構の解明を進めている。

ミスマッチ DNA 修復系システムの MutS 蛋白質ファミリーは、バクテリアからヒトまで全ての生物に存在し、ミスマッチ DNA 部分を認識する蛋白質群である。ヒトでは、これらの蛋白質の異常が家族性大腸癌の原因であることが知られている。高度好熱菌の MutS 蛋白質ファミリーのひとつ、MutS2 (TTHA1645) の機能解析を行ったところ、MutS2 が DNA 相同組換えの中間体であるホリデイ構造や D-loop 構造に強く結合することが明らかになった。さらに、MutS2 の C 末端ドメインが新奇のエンドヌクレアーゼドメインであること、*mutS2* 欠損株では野生株に比べて相同組換え効率が上昇していることを発見した。これらの結果は、MutS2 が相同組換え中間体を切断する酵素であることを示唆する。

メチル化 DNA 修復系システムの *O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (Ogt) は、細胞代謝の中間体である S-adenosylmethionine などによって生じるアルキル化傷害 DNA を認識し、修復する酵素である。通常、Ogt は DNA 中のメチル基を自身のシステインへ転移させることで傷害を修復する。しかし、活性部位のシステイン残基がアラニン残基に置換されたものも生物界に広く存在し、それらによる修復機構は未解明であった。高度好熱菌 Ogt (TTHA1564) もそのようなアラニン置換型 Ogt の一つである。この Ogt は、*O*⁶-methylguanine-DNA に対する高い親和性を示すが、メチル基転移活性を持たないことを明らかにした。その結果、この Ogt は別の修復系システムの酵素群にメチル化傷害部位の存在を伝達するセンサーとして働いていることが示唆された。

塩基除去修復系システムの EndonucleaseV は、DNA の脱アミノ反応の結果生じる傷害を修復に関与する。本酵素はほとんど全ての生物に存在するが、その修復機構は未解明であった。そこで、質量分析計を用いた手法で、DNA 切断様式を解析しとて、この酵素は、脱アミノ傷害の 3' 側の 2 番目のホスホジエステル結合を切断する事が分かった。このことから、この酵素による修復システムには、3'-5' エキソヌクレアーゼ、DNA ポリメラーゼ、DNA リガーゼが必要であることが分かった。

相同組換え系システム、塩基除去修復系システム、ミスマッチ修復系システムなど様々な DNA 修復反応において様々なエキソヌクレアーゼ群が関与することが示唆されているが、それらの役割分担については不明なことが多い。その中で、高度好熱菌の RecJ 蛋白質は、5'-3' エキソヌクレアーゼであり、その RecJ 蛋白質と同様な活性ドメインをもつ機能未知蛋白質 TTHA0118 が、単鎖 DNA に対する 5'-3' エキソヌクレアーゼ活性を持ち、その活性発現には Mn^{2+} が必須であることを明らかにした。

ヌクレオチド除去修復系システムは、紫外線照射によるチミンダイマーや活性酸素による酸化傷害など、非常に幅広く DNA 傷害部位を認識し、修復する。ヒトではこの修復系システムの異常はコケイン症候群の原因として知られている。この修復系システムの UvrA と UvrB による様々な DNA 傷害部位への親和性を測定したところ、これらの蛋白質が、DNA 二本鎖を大きく歪める傷害に対して高い親和性を示すことが明らかになった。それらの結果から、ヌクレオチド除去修復系システムが、傷害の化学的な構造そのものではなく、傷害による DNA 二本鎖の歪みを認識していることが示唆された。

DNA 修復システムにおいては、傷害を受けた領域をいったん取り除いた後、再び DNA を合成するための DNA ポリメラーゼが必要とされる。傷害の種類によって除去の方法が異なるため、多様な種類の DNA ポリメラーゼが関与する。本研究において、高度好熱菌の機能未知蛋白質 TTHA1150 が、1 塩基のギャップを含む二本鎖 DNA に対して高い親和性を示し、そのギャップを埋める DNA ポリメラーゼ活性を持つ事を発見した。そのような活性は塩基除去修復システムに必要とされるため、この蛋白質は新奇の塩基除去修復系システムに関与する酵素であると考えられる。

3 . 機能未知蛋白質の機能発見研究 (倉光、北村、大森、稲垣^{*2}、田村^{*2}、岡本^{*2}、津下^{*2}、神鳥^{*2}、金(光)^{*2}、金(重)^{*2}、福井^{*1}、近藤^{*1}、大賀^{*1}、石川^{*1}、若松^{*1}、落海^{*1}、森田^{*1}、宮崎^{*1}、井上^{*1})

これまでの人類の研究により、多くの蛋白質の機能が発見されてきた。しかし、現在においても、ヒトを含めたあらゆる生物に共通で、基本的生命現象に関与するにもかかわらず、機能が未発見のままで残された蛋白質がまだ約 500 種類も存在する。それらの機能発見研究は、高度好熱菌をモデル生物としたシステム生物学的研究に欠かせないものである。

機能推定に、蛋白質の立体構造情報がどの程度役立つかを検証することにし、まずこれら 500 種類すべての立体構造解析を試みたところ、約 50 種類の立体構造解析に成功した。その立体構造情報から、60% の確率で機能が推

定でき、その推定にもとづいて精製蛋白質の機能を確認することができた。機能推定が可能になった理由は、1 . 既知のフォールドを持っていた、2 . リガンドの予想が可能であった、3 . ホスト細胞由来のリガンドが結合していた、などであった。

その結果、蛋白質の立体構造情報は、機能推定に非常に有効であることが示された。

立体構造解析に成功しても機能が推定できなかった残りの 40% と、立体構造解析に成功しなかった蛋白質については、mRNA の発現解析 (トランスクリプトミックス) 蛋白質の発現解析 (プロテオミックス) 代謝物質の増減解析 (メタボロミックス) 遺伝子破壊株の表現系解析 (フェノミックス) 分子間相互作用解析 (インタラクトームミックス) などの手法を効果的に用いることで機能を推定し、精製蛋白質の機能を確認した。このようにして、DNA 修復系システム、ヌクレオチド代謝系システム、その他のシステムに含まれる約 20 種類の蛋白質の機能を発見した。

4 . 情報およびリソースの公開 (倉光、佐藤、北村、井上、浮田、松浦、松本、大森、西田、柳楽、有馬、木村^{*2})

前述のように、これまでに作製した蛋白質発現用プラスミド約 2,000 種類と、遺伝子破壊株作製のプラスミド約 1,000 種類などのリソースは、希望する研究者へ配布している。また、それらを利用した蛋白質発現方法や蛋白質精製法、遺伝子破壊株作製法などの情報のほか、ゲノムワイドな mRNA 解析 (トランスクリプトミックス) 蛋白質解析 (プロテオミックス) 代謝物質解析 (メタボロミックス) などの情報も、希望する研究者に公開している。さらに、本好熱菌には、すでにわかっているだけでも、約 100 種類の代謝系システムが存在し、各システムには平均約 10 種類の酵素蛋白質が存在することがわかっている。本高度好熱菌に関するそれらの情報をウェブサイト (<http://www.thermus.org>) に公開すると同時に、立体構造解析の進捗状況を代謝マップ上に示し、蛋白質の立体構造を考慮に入れた「原子分解能のシステム生物学的研究」が加速される一助としている。さらに、SPRING-8 で毎年夏期に開催する理研シンポジウムなどにおいても、情報やリソースの公開に努めている。

^{*1} 研修生、^{*2} 客員研究員、

The minimum gene set estimated as being essential for a free living organism is about 1,500. Microorganisms living in extreme environments often have about this number of genes, which are common to and indispensable for other organisms, including *Homo sapiens*. Understanding fundamental biological phenomena on the basis of the structure and the function of biomolecules from one organism is essential to gain systems-level insight into organisms. This research team has focused on *Thermus thermophilus* HB8, produced the proteins needed to reconstruct the cellular systems of interest, and revealed networks of genes, proteins and metabolites, using a functional genomics approach.

1. Improvement in membrane protein expression.

We have determined the crystal structures of over 20% of the total proteins encoded by the *T. thermophilus* genome.

This research rate is close to the maximum for current crystallographic analysis methods, and new technology for protein production and crystallization will be needed. Membrane proteins are encoded by about 30% of the genes within prokaryotic and eukaryotic genomes, and they play significant roles in energy metabolism and cellular homeostasis. However, our understanding of membrane proteins has been limited by experimental bottlenecks in preparing sufficient amounts of the proteins. Recently, Roosild *et al.* reported a novel method for membrane protein expression, by fusing a membrane protein called Mystic to a target protein. We tested this method for the overproduction of *T. thermophilus* membrane proteins, and over 70% of the tested proteins were successfully expressed.

2. Structural and functional analyses of DNA repair systems.

In cells, a vast amount of DNA damage occurs from UV radiation, various chemical reagents, and errors during DNA replication and genetic recombination. This damage is very harmful, and can result in mutagenesis and even in cell death. To remove these lesions, cells have various types of DNA repair systems, and most of them are common to many organisms, including human.

MutS homologues are highly conserved enzymes engaged in various DNA transactions. We found that *T. thermophilus* MutS2, a member of the MutS family, tightly binds to an early intermediate in homologous recombination and its C-terminal region is a novel endonuclease domain. In addition, disruption of the *mutS2* gene in *T. thermophilus* increased the frequency of homologous recombination. These findings strongly suggest that *T. thermophilus* MutS2 suppresses homologous recombination through the resolution of an early intermediate in the reaction.

*O*⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (Ogt) repairs alkylated DNA generated by reactions with metabolites in the cell, such as *S*-adenosylmethionine. Ogt transfers a methyl group from the damaged base to a cysteinyl residue in the enzyme. However, many organisms, including *T. thermophilus* HB8, possess an Ogt variant (TTHA1564) lacking the cysteinyl residue in the catalytic site. We confirmed that *T. thermophilus* Ogt can recognize an *O*⁶-methylguanine-DNA, however, the enzyme lacks the methyltransferase activity. These results indicate the potential role of *T. thermophilus* Ogt as a sensor protein to recognize *O*⁶-methylguanine-DNA and convey it to another DNA repair system.

An exodeoxyribonuclease, RecJ, is required for various DNA transactions including homologous recombination, base-excision repair, nucleotide-excision repair and mismatch repair. *T. thermophilus* HB8 possesses not only RecJ but also a function-unknown protein, TTHA0118, with amino acid sequence homology to the catalytic site of RecJ. Our functional analyses revealed that TTHA0118 is a Mn²⁺-dependent 5'-3' exonuclease. Unlike RecJ, TTHA0118 digested not only DNA but also RNA substrates, indicating that this protein is involved in oligonucleotide recycling.

Nucleotide-excision repair possesses broader substrate specificity. To clarify how the system can recognize the wide range of DNA damage, we investigated the substrate specificity of UvrA (TTHA1440) and UvrB (TTHA1892), which form the damage-recognizing complex in the system. We found that UvrA and UvrB preferably bind to DNA damage that greatly distorts the double-stranded DNA structure, indicating that the repair system recognizes a common distortion in the DNA helix,

rather than the chemical structure of the DNA damage.

Purine base deamination in DNA is a natural phenomenon, but it is mutagenic for cells. TTHA1347 incised the phosphodiester bond at the second 3'-side of the deaminated purine base, indicating that TTHA1347 is involved in the repair reaction of deaminated purine bases, and that the system requires a 3'-5' exodeoxyribonuclease, a DNA polymerase and a DNA ligase to complete the repair.

DNA repair systems need DNA polymerases to resynthesize DNA strands after lesion removal. TTHA1150 demonstrated high affinity for double-stranded DNA containing one-base gap and filled the gap. Such activity is generally needed for the base-excision repair system.

3. Research on functionally-uncharacterized proteins.

The *T. thermophilus* HB8 genome has about 2,200 genes, and about 500 of the genes encode hypothetical proteins of unknown function. These proteins are conserved in almost all organisms, ranging from bacteria to human. Functional analyses of these proteins are necessary to interpret the global biological phenomena of the cell. Since the three-dimensional structure of a protein is more strictly conserved than the amino acid sequence during evolution, the structure of a hypothetical protein can provide insight into its function. We have determined the crystal structures of functionally-uncharacterized proteins. As a result, our structural analyses yielded us functional clues for about 60% of the proteins with solved structures. Further experiments concerned with mRNA expression analysis, proteomics analysis, and metabolomics analysis provided genome-wide functional information about the remaining 40% of the proteins.

4. Data sharing

Our web site provides experimental data about structural and functional analyses of *T. thermophilus* HB8 (<http://www.thermus.org>). The data are classified into the 91 categories of metabolic pathways, and are available to outside researchers. This information is utilized to identify previously uncharacterized orthologs that participate in the metabolic pathways.

Staff

Head

Dr. Seiki KURAMITSU

Members

Ms. Yumiko INOUE
Ms. Yoko UKITA
Ms. Noriko MATSUURA
Mr. Shinya SATO
Mr. Yoshiaki KITAMURA

in collaboration with

Dr. Yoshitsugu SHIRO (Biometal Science Lab.)
Dr. Hideyuki MIYATAKE (Biomolecular Characterization Team)

Dr. Mariko HATAKEYAMA (Cellular knowledge Modeling Team, GSC)
Ms. Kaori IDE (Cellular knowledge Modeling Team, GSC)
Dr. Akihiko KONAGAYA (Cellular knowledge Modeling Team, GSC)
Dr. Fumikazu KONISHI (High Performance Biocomputing Research Team, GSC)
Dr. Tadashi NAKAI (JSPS)
Dr. Takeshi NAGASHIMA (Biomedical knowledge Discovery Team, GSC)
Dr. Taishi TSUBOUCHI (Biotech. Res. Cen. Univ. Tokyo)

Technical Staffs

Ms. Kayoko MATSUMOTO
Mr. Takeshi NAGIRA
Ms. Masami NISHIDA
Ms. Miwa OHMORI
Ms. Toshi ARIMA

Visiting Members

Dr. Keiichi FUKUYAMA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Ken HIROTSU (Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ.)
Dr. Masaru GOTO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Kenji INAGAKI (Fac. Agric., Okayama Univ.)
Dr. Yoshimitsu KAKUTA (Grad. Sch. Bioresour. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ.)
Dr. Ryuichi KATO (IMSS, KEK)
Dr. Masahide KAWAMOTO (JASRI)
Dr. Makoto KIMURA (Grad. Sch. Bioresour. Bioenviron. Sci., Kyushu Univ.)
Dr. Shu-hei KIMURA (Fac. Eng., Tottori Univ.)
Dr. Ken KUROKAWA (Grad. Sch. Info. Sci., NAIST)
Dr. Shintaro MISAKI (Shionogi & Co., Ltd.)
Dr. Ikuko MIYAHARA (Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ.)
Dr. Makoto NISHIYAMA (Biotechnology Research Center, Univ. Tokyo)
Dr. Akihiro OKAMOTO (Sch. High-Tech. Human Welfare, Tokai Univ.)
Dr. Rie OMI (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Takeshi SEKIGUCHI (Grad. Sch. Sci. Eng., Iwaki Meisei Univ.)
Dr. Yasuo SUDA (Grad. Sch. Sci. Eng., Kagoshima Univ.)
Dr. Kaoru SUZUKI (Grad. Sch. Sci. Eng., Iwaki Meisei Univ.)
Dr. Takashi TAMURA (Fac. Agric., Okayama Univ.)
Dr. Hideaki TSUGE (Inst. Health Sci., Tokushima Bunri Univ.)
Dr. Hitoshi YAMAMOTO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Masayuki YAMAMURA (Grad. Sch. Sci. Eng., Tokyo Inst. Technol.)
Dr. Teruo YASUNAGA (Genome Inf. Res. Cen., Osaka Univ.)
Dr. Akiko KITA (Kyoto Univ., Research Reactor Inst.)
Dr. Hisashi MURAMATSU (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Hiroshi KANAZAWA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Kwan KIM (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Dr. Seiji ISHII (Dept. Biochem. Urol., Osaka Med. Col.)
Dr. Takato YANO (Dept. Biochem. Urol., Osaka Med. Col.)
Dr. Shigehiro KAMITORI (Life Sci. Res. Fac. Med., Kagawa Univ.)
Dr. Tateo ITO (Dept. Biol. Fac. Sci., Shinshu Univ.)
Dr. Kenji UEDA (Life Sci. Res. Col. Biores. Sci. Nihon Univ.)
Dr. Masatada TAMAKOSHI (Dept. Mol. Biol., Tokyo Univ. Pharm. Life Sci.)
Dr. Naoto OHTANI (Inst. Adv. Biosci., Keio Univ.)

Dr. Mitsuyasu ITAYA (Grad. Sch. Med. Gov., Keio Univ.)
Dr. Yasuhiko KOMATSU (R&D Div., Adv. Life Sci. Inst.)
Dr. Shin-ichiro KATO (Res. Inst. Mol. Gen., Kochi Univ.)
Dr. Kouhei OHNISHI (Res. Inst. Mol. Gen., Kochi Univ.)
Dr. Toshiharu YAGI (Dept. Biores. Sci. Fac. Agr., Kochi Univ.)
Dr. Hirotsada MORI (Grad. Sch. Biol. Sci., Nara Inst. Sci. Tech.)
Dr. Nobuo KAMIYA (RIKEN Harima Inst.)
Dr. Jian-Ren SHEN (RIKEN Harima Inst.)
Dr. Takahiro HENMI (Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ.)

Trainees

Mr. Naoyuki KONDO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Kenji FUKUI (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Ms. Ikumi SAITO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Takushi OOGA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Hirohito ISHIKAWA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Taisuke WAKAMATSU (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Masahito OCHIUMI (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Ryosuke MEGA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Rihito MORITA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Ms. Rie TOMIYAMA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Ms. Toshiko MIYAZAKI (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Masao INOUE (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Yosuke KAWANO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Yukari SATO (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Mr. Kentaro KAI (Fac. Sci., Osaka City Univ.)
Mr. Takeshi DAIMON (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)
Ms. Chihiro MATSUSHITA (Grad. Sch. Sci., Osaka City Univ.)

誌上発表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文誌

- Nakano N., Okazaki N., Sato S., Takio K., Kuramitsu S., Shinkai A., and Yokoyama S.: "Structure of the Stand-alone RAM-domain Protein from *Thermus thermophilus* HB8", Acta Cryst. F 62, No. 9, pp.855--860 (2006). *
- Tomita T., Kuzuyama T., and Nishiyama M.: "Alteration of coenzyme specificity of lactate dehydrogenase from *Thermus thermophilus* by introducing the loop region of NADP(H)-dependent malate dehydrogenase", Biosci. Biotechnol. Biochem. 70, No. 9, pp.2230--2235 (2006). *
- Tanaka T., Sawano M., Ogasahara K., Sakaguchi Y., Bagautdinov B., Katoh E., Kuroishi C., Shinkai A., Yokoyama S., and Yutani K.: "Hyper-thermostability of CutA1 protein, with a denaturation temperature of nearly 150°C", FEBS Lett. 580, 4224--4230 (2006). *
- Ishikawa H., Nakagawa N., Kuramitsu S., and Masui R.: "Crystal structure of TTHA0252 from *Thermus thermophilus* HB8, a RNA degradation protein of the metallo-β-lactamase superfamily", J. Biochem. 140, 535--542 (2006). *
- Iwasaki W., Sekine S., Kuroishi C., Kuramitsu S., Shirouzu M., and Yokoyama S.: "Structural Basis of the Water-Assisted Asparagine Recognition by Asparaginyl-tRNA Synthetase", J. Mol. Biol. 360, 329--342 (2006). *
- Sasaki H., Sekine S., Sengoku T., Fukunaga R., Hattori M., Utsunomiya S., Kuroishi C., Kuramitsu S., Shirouzu M., and Yokoyama S.: "Structural and mutational studies of the amino acid-editing domain from archaeal/eukaryal phenylalanyl-tRNA synthetase", Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103, No. 40, pp.14744--14749 (2006). *
- Sakai C., Sugiura I., Ebihara A., Tamura T., Sugio S., and

- Inagaki K. : "The crystal structure of hypothetical methyltransferase from *Thermus thermophilus* HB8", *Proteins* 64, 552--557 (2006). *
- Hattori M. ,Mizohata E. ,Tatsuguchi A. ,Shibata R. ,Kishishita S. ,Murayama K. ,Terada T. ,Kuramitsu S. ,Shirouzu M. ,and Yokoyama S. : "Crystal structure of the single-domain rhodanese homologue TTHA0613 from *Thermus thermophilus* HB8", *Proteins: Struct. Funct. Bioinf.* 64, 284--287 (2006). *
- Ito K. ,Arai R. ,Fusatomi E. ,Kamo T. ,Kawaguchi S. ,Akasaka R. ,Terada T. ,Kuramitsu S. ,Shirouzu M. ,and Yokoyama S. : "Crystal structure of the conserved protein TTHA0727 from *Thermus thermophilus* HB8 at 1.9Å resolution : A CMD family member distinct from carboxymuconolactone decarboxylase (CMD) and AhpD", *Protein Sci.* 15, No. 5, pp.1187--1192 (2006). *
- Ebihara A. ,Yao M. ,Masui R. ,Tanaka I. ,Yokoyama S. ,and Kuramitsu S. : "Crystal structure of hypothetical protein TTHB192 from *Thermus thermophilus* HB8 reveals a new protein family with an RNA recognition motif-like domain", *Protein Sci.* 15, 1494--1499 (2006). *
- Dong X. ,Bessho Y. ,Shibata R. ,Nishimoto M. ,Shirouzu M. ,Kuramitsu S. ,and Yokoyama S. : "Crystal structure of the tRNA pseudouridine synthase TruA from *Thermus thermophilus* HB8", *RNA Biol.* 3, No. 3, pp.115--121 (2006). *
- Yoshikawa S. ,Arai R. ,Kinoshita Y. ,Kamo T. ,Wakamatsu T. ,Akasaka R. ,Masui R. ,Terada T. ,Kuramitsu S. ,Shirouzu M. ,and Yokoyama S. : "Structure of archaeal glyoxylate reductase from *Pyrococcus horikoshii* OT3 complexed with nicotinamide adenine dinucleotide phosphate", *Acta Cryst. D* 63, No. 3, pp.357--365 (2007). *
- Kondo N. ,Nakagawa N. ,Ebihara A. ,Chen L. ,Liu Z. ,Wang B. ,Yokoyama S. ,Kuramitsu S. ,and Masui R. : "Structure of dNTP-inducible dNTP triphosphohydrolase: insight into broad specificity for dNTPs and triphosphohydrolase-type hydrolysis", *Acta Cryst. D* 63, 230--239 (2007). *
- Okazaki N. ,Kumei M. ,Manzoku M. ,Kuramitsu S. ,Shirouzu M. ,Shinkai A. ,and Yokoyama S. : "Structure of a UPF0150-family Protein from *Thermus Thermophilus* HB8", *Acta Cryst. F* 63, No. 3, pp.173--177 (2007). *
- Kanaujia S. P. ,Ranjani C. V. ,Jeyaraman J. ,Baba S. ,Chen L. ,Liu Z. ,Wang B. ,Nishida M. ,Ebihara A. ,Shinkai A. ,Kuramitsu S. ,Shiro Y. ,Sekar K. ,and Yokoyama S. : "Crystallization and preliminary crystallographic analysis of molybdenum-cofactor biosynthesis protein C from *Thermus thermophilus*", *Acta Cryst. F* 63, 27--29 (2007). *
- Kanaujia S. P. ,Ranjani C. V. ,Jeyaraman J. ,Baba S. ,Kuroishi C. ,Ebihara A. ,Shinkai A. ,Kuramitsu S. ,Shiro Y. ,Sekar K. ,and Yokoyama S. : "Cloning, expression, purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic study of DHNA synthetase from *Geobacillus kaustophilus*", *Acta Cryst. F* 63, 103--105 (2007). *
- Lokanath N. K. ,Matsuura Y. ,Kuroishi C. ,Takahashi N. ,and Kunishima N. : "Dimeric core structure of modular stator subunit E of archaeal H⁺-ATPase", *J. Mol. Biol.* 366, 933--944 (2007). *
- Fukui K. ,Kosaka H. ,Kuramitsu S. ,and Masui R. : "Nuclease activity of the MutS homologue MutS2 from *Thermus thermophilus* is confined to the Smr domain", *Nucleic Acids Res.* 35, No. 3, pp.850--860 (2007). *
- (総説)
- 海老原 章郎 ,新海 暁男 ,中川 紀子 ,増井 良治 ,三木 邦夫 ,横山 茂之 ,倉光 成紀 : "高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクト：構造ゲノム科学からシステム生物学へ", *日本結晶学会誌* 48, No. 6, pp.403--410 (2006).
- (その他)
- Yokoyama S. ,Terwilliger T. C. ,Kuramitsu S. ,Moras D. ,and Sussman J. L. : "RIKEN aids international structural genomics efforts", *Nature* 445, No. 4, p.21 (2007).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

- Mega R. ,Kondou N. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Domain analysis of dNTP triphosphohydrolase from *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Fukui K. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Functional Analysis of a MutS Parologue, MutS2", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Kondou N. ,Masui R. ,Nakagawa N. ,and Kuramitsu S. : "Functional analysis of dNTP triphosphohydrolase", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Ochiumi M. ,Fukui K. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Functional analysis of MutL from *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Morita R. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Functional analysis of O⁶-methylguanine-DNA-methyltransferase from *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Saito I. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Nucleotide Excision Repair of *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Ebihara A. ,Kanagawa M. ,Kuroishi C. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,Terada T. ,Shirouzu M. ,Miki K. ,Yokoyama S. ,and Kuramitsu S. : "Progress in the Whole Cell Project of a Model Organism, *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Wakamatsu T. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Structural analysis of a Nudix protein that hydrolyzes FAD and ADP-ribose", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Ishikawa H. ,Nakagawa N. ,Masui R. ,and Kuramitsu S. : "Structural and functional analysis of TTHA0252 from *Thermus thermophilus* HB8", 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress , Kyoto , June (2006).
- Lokanath N. K. ,Kuroishi C. ,Sugahara M. ,and Kunishima N. : "Crystal structure of modular stator subunit E of archaeal H⁺-ATPase from *Pyrococcus horikoshii* OT3", 2006 Meeting of the American Crystallographic Association (ACA 2006) , Honolulu , USA , July (2006).
- Ogasahara K. ,Tanaka T. ,Sawano M. ,Sakaguchi Y. ,Bagautdinov B. ,Kato H. ,Kuroishi C. ,Shinkai A. ,Yokoyama S. ,and Yutani K. : "Hyper-thermostability of CutA1 protein, with a denaturation temperature of nearly 150°C", 20th Symposium of The Protein Society and 20th Anniversary Celebration , San Diego , USA , Aug. (2006).
- Nakagawa N. ,Ebihara A. ,Kanagawa M. ,Kuroishi C. ,Masui R. ,Terada T. ,Shirouzu M. ,Miki K. ,Yokoyama S. ,and Kuramitsu S. : "Progress in the Whole Cell Project of a Model Organism, *Thermus thermophilus* HB8", 4th ISGO International Conference on Structural Genomics (ICSG2006) , Beijing , China , Oct. (2006).
- Kuramitsu S. : "Structural Genomics of *Thermus thermophilus*

- HB8", ESF-EMBO Symposium on Bacterial Networks: Joining the Strengths of Structural-and Systems Biology to reach 'Synthetic' biology, Sant Feliu de Guixols, Spain, Oct. (2006).
- Imagawa T., Iino H., Kanagawa M., Ebihara A., Kuramitsu S., and Tsuge H.: "Crystal structure of the hypothetical protein TTHB029 from *Thermus thermophilus* HB8", 5th East Asian Biophysics Symposium and 44th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (EABS and BSJ 2006), Okinawa, Nov. (2006).
- Ebihara A., Kanagawa M., Kuroishi C., Nakagawa N., Masui R., Terada T., Shirouzu M., Miki K., Yokoyama S., and Kuramitsu S.: "Progress in the Whole Cell Project of a Model Organism, *Thermus thermophilus* HB8", Joint Conference of the Asian Crystallographic Association and the Crystallographic Society of Japan (AsCA'06/CrSJ), Tsukuba, Nov. (2006).
- Kikuchi K., Kondo H., Juan E., Adachi W., Masui R., Kuramitsu S., Suzuki K., Sekiguchi T., and Takenaka A.: "Structural study on full-size acetyltransferase (E2p) of pyruvate dehydrogenase complex from *Thermus thermophilus*", Joint Conference of the Asian Crystallographic Association and the Crystallographic Society of Japan (AsCA'06/CrSJ), Tsukuba, Nov. (2006).
- Kishishita S., Murayama K., Terada T., Shirouzu M., Kuramitsu S., and Yokoyama S.: "The crystal structure of a conserved hypothetical protein, TTHA0132 from *Thermus thermophilus* HB8 with homology to the non-histone domain of macroH2A", Joint Conference of the Asian Crystallographic Association and the Crystallographic Society of Japan (AsCA'06/CrSJ), Tsukuba, Nov. (2006).
- (国内会議)
- 福井 健二, 増井 良治, 倉光 成紀: "MutS パラログ, MutS2 の分子機能解析", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).
- 伊藤 晋敏, 村山 和隆, 寺田 貴帆, 倉光 成紀, 白水 美香子, 横山 茂之: "*Thermus thermophilus* HB8由来TTHA0657とその基質複合体のX線結晶構造解析", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).
- 海老原 章郎, 金川 真由美, 黒石 千寿, 中川 紀子, 増井 良治, 寺田 貴帆, 白水 美香子, 三木 邦夫, 横山 茂之, 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 をモデル生物とした「丸ごと一匹プロジェクト」の進捗状況", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).
- 伊東 夏織, 新井 亮一, 房富 絵美子, 加茂 友美, 河口 真一, 赤坂 領吾, 寺田 貴帆, 倉光 成紀, 白水 美香子, 横山 茂之: "高度好熱菌由来機能未知タンパク質TTHA0727のX線結晶構造解析", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).
- 富山 理恵, 藤田 咲子, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "酸化傷害 DNA 修復酵素の反応機構の解析", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).
- 伊藤 晋敏, 村山 和隆, 寺田 貴帆, 倉光 成紀, 白水 美香子, 横山 茂之: "高度好熱菌由来メチルトランスフェラーゼの立体構造からみた構造機能相関", 第3回東北大学バイオサイエンスシンポジウム, 仙台, 5月 (2006).
- 富山 理恵, 藤田 咲子, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "酸化傷害 DNA 修復酵素 MutM の反応機構の解析", 第53回日本生化学会近畿支部例会, 大津, 5月 (2006).
- 伊藤 寛啓, 吉良 聡, 中川 紀子, 倉光 成紀, 三瓶 巖一, 河合 剛太: "高度好熱菌ゲノム情報および発現解析による新規低分子 RNA の検索", 第8回日本 RNA 学会年会第8回RNAミーティング, 淡路, 7月 (2006).
- 甲斐 健太郎, 宮原 郁子, 中川 紀子, 倉光 成紀, 神谷 信夫: "時間分割X線結晶構造解析の標的: 高度好熱菌HB8由来 ADP-Ribose Pyrophosphatase", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 富山 理恵, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "酸化傷害DNA修復酵素MutMの反応機構の解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 松下 千紘, 姜 美奈, 後藤 勝, 近江 理恵, 宮原 郁子, 神谷 信夫: "高度好熱菌 HB8 由来 Thiamine-Monophosphate Kinase (ThiL) の結晶構造解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 久野 玉雄, 中村 光裕, 瀧尾 擴士, 佐藤 伸哉, 三木 邦夫: "ジヒドロネオプテリン・アルドラーゼの結晶構造", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 伊藤 彰厚, 岡村 高明, 山本 仁, 上山 憲一: "ルテニウム錯体型N端標識試薬を用いた *Thermus thermophilus* HB8 由来の複合タンパク質の解析法", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 妻鹿 良亮, 近藤 直幸, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 dNTP triphosphohydrolase のドメインおよびサブユニット解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 伊藤 寛啓, 中川 紀子, 倉光 成紀, 三瓶 巖一, 河合 剛太: "*Thermus thermophilus* HB8 における遺伝子間領域の発現解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 近藤 直幸, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "dNTP triphosphohydrolase の機能解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 若松 泰介, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "高度好熱菌由来 RecJ-like タンパク質の機能解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 森田 理日斗, 中川 紀子, 倉光 成紀, 増井 良治: "高度好熱菌由来 ϕ -methylguanine-DNA methyltransferase の機能解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 福井 健二, 増井 良治, 倉光 成紀: "エンドヌクレアーゼ MutS2 は相同組換え中間体を認識する", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 齋藤 郁美, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 ヌクレオチド除去修復系の機能解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 をモデル生物とした「丸ごと一匹プロジェクト」の進捗状況", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 石川 大仁, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "*Thermus thermophilus* HB8 由来 TTHA0252 の構造機能解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 広津 建, 近江 理恵, 宮原 郁子, 後藤 勝: "*Thermus thermophilus* HB8 アミノ酸代謝系タンパク質の構造と機能", 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5回連携研究会, 播磨, 8月 (2006).
- 増井 良治, 中川 紀子, 倉光 成紀: "高度好熱菌のDNA修復系

- のシステム生物学に向けて", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 松崎 富士郎, 馬場 裕一, 木村 誠, 角田 佳充: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来ペプチドグリカン合成酵素 Mur E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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 阿部 暁美, 吉田 裕美, 神鳥 成弘, 上利 佳弘, 金川 真由美, 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 TT1324 のX線結晶解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 山田 真, 吉田 裕美, 神鳥 成弘, 中川 紀子, 上利 佳弘, 金川 真由美, 倉光 成紀: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来 TT1592 のX線結晶解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 中林 誠, 柴田 直樹, 中井 恵美, 金川 真由美, 中川 紀子, 倉光 成紀, 樋口 芳樹: "CBSドメインを有するタンパク質 TTHA0829: 結晶構造とトランスクリプトーム解析に基づいた機能の推定", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 宮崎 敏子, 中川 紀子, 増井 良治, 倉光 成紀: "*Thermus thermophilus* HB8 CSP の構造機能解析 代謝制御メカニズムの解明: ストレス応答からのアプローチ", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 今川 貴仁, 飯野 均, 金川 真由美, 海老原 章郎, 倉光 成紀, 津下 英明: "高度好熱菌 *Thermus thermophilus* HB8 由来タンパク質TTHB029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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 大賀 拓史, 大橋 由明, 中川 紀子, 増井 良治, 曾我 朋義, 富田 勝, 横山 茂之, 倉光 成紀: "生理機能未知酵素Ndx8が関わる細胞増殖制御のメタボローム解析", 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5回連携研究会, 播磨, 8月(2006).
- 西條 慎也, 大熊 章郎, 内藤 久志, 川上 恵典, 沈 建仁, 宮原 郁子, 神谷 信夫: "X線損傷低減法による光化学系IIマンガンクラスターの構造解析", 文部省科学研究費補助金特定領域研究「生体超分子の構造形成と機能制御の原子機構」第2回ワークショップ, 葉山, 8月(2006).
- 中川 紀子, 新海 暁男, 海老原 章郎, 増井 良治, 横山 茂之, 倉光 成紀: "高度好熱菌丸ごと一匹プロジェクトの進捗状況", 第7回極限環境微生物学会年会, 川崎, 11月(2006).