

# 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学的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の基盤整備を行っている。タンパク 3000 プロジェクトの最終年度である本年度では、数値目標の達成に注力するとともに、より解析困難なタンパク質に対応するための技術開発を進めた。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、164 件の PDB 登録を行った（担当者：浅田、清水、菅原、水谷、山本、Bagautdinov, Lokanath）。

(1) 液胞型プロトンポンプのモーター支持部分の基本的な二量体結合構造の発見（Lokanath）

生物は様々な生体膜を介して、プロトン（水素イオン）を能動的に輸送し、生命活動の維持に必要なエネルギー生産などに利用している。そのプロトン輸送を行う「プロトンポンプ」は巨大な膜タンパク質複合体で、主にモーター部分、膜に埋め込まれたプロトン透過部分、それらをつなぐモーター支持部分から構成されている。最近、ヒトの骨粗しょう症や癌転移に関与する液胞型プロトンポンプと類似していることから、古細菌に存在する古細菌型プロトンポンプが注目されている。しかし、古細菌型プロトンポンプは他と比べて大型で複雑な構造を持ち、詳細な働きを明らかにする上で不可欠な構造決定は困難である。そこで研究チームでは、古細菌型プロトンポンプの全立体構造を解明する手始めとして、そのモーター支持部分を切り出して結晶化し、SPRING-8 の放射光を用いて構造決定することに成功した。その構造情報をもとに、他の様々なプロトンポンプと比較することで、プロトンポンプのモーター支持部分が共通して二量体の基本構造を持つことを世界で初めて提唱した。古細菌型プロトンポンプ全体の詳細な立体構造が得られれば、骨粗しょう症や癌転移の治療薬開発に道が拓けるほか、バイオナノマシンの実現などへの応用が期待される。（Lokanath *et al.* (2007) *J. Mol. Biol.* **366**, 933–944; プレスリリース 2006 年 12 月 6 日）

(2) RecA スーパーファミリー ATP アーゼ PH0284 蛋白質の結晶構造解析（Bagautdinov）

概日時計蛋白質は藍藻で見つかっており、KaiABC 蛋白質複合体が概日リズムを作り出すことが知られている。今回我々は超好熱古細菌 *Pyrococcus horikoshii* OT3 由来の KaiC ホモログである PH0284 蛋白質の結晶構造決定に成功した。基質である ATP および生成物である ADP とのリガンド複合体として構造決定した。超好熱古細菌は概日リズムを必要としない環境に生息するので、本蛋白質と概日リズムの関係について興味を持たれる。PH0284 蛋白質はドーナツ型の 6 量体構造をとっており、KaiC 蛋白質の CI ドメインのそれとよく似ている。リガンドの結合部位も両者

で保存されている。結合した ATP と ADP の構造を詳細に比較した結果、リン酸部分の分子認識に明らかな違いが見られた。ATP の加水分解反応におけるリガンドの構造変化を捉えたと考えられる。（Bagautdinov *et al.* (2006) *Acta Cryst. F* **62**, 412–414; Bagautdinov *et al.* (2006) 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan）

### 2. 構造ゲノム科学推進のための技術開発

我々は、大規模構造解析を効率良く行うため、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基盤整備を行っている。これまでに開発した技術を組み込んで構築した構造解析パイプラインを実際に運用し、解析未経験者による変異体タンパク質の効率的な構造決定プロセスについて標準化を完成させた。また、高難度タンパク質の結晶構造解析に対応した要素技術の開発を行った。（担当者：浅田、清水、菅原、水谷、山本、高<sup>1</sup>）

(1) 解析支援ソフトウェア開発（浅田、菅原、高<sup>1</sup>）

構造解析効率化のためのソフトウェア開発として、これまでに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さらなる高度化を行った。

自動解析システム。分子置換法においてプローブ分子のドメイン間配置を自動的に変化させながら計算を行う新機能の追加、およびモデルチェック部への電子密度表示機能の追加を行った。この自動分子置換機能により、複数の可変ドメインから成るタンパク質のような難易度の高い分子置換も自動で行えるようになった。また、モデルチェック機能の特許化を行った（特願 2006-182529「たんぱく質の X 線構造解析で構築したモデル修正用プログラムおよびコンピュータシステム」、浅田征彦・国島直樹・高秀幸、平成 18 年 6 月 30 日）。

構造評価システム。変異体の構造解析結果に基づいた側鎖コンフォメーションのライブラリー化を行った。また、モデルの安定性を非共有結合エネルギーで評価する機能も追加した。これらの機能を、変異導入による結晶改善の予測等に利用することが可能である。

重原子検索システム（<http://hatodas.harima.riken.go.jp/> で公開）。立体構造と BLAST (NR) でのオルソログ間の配列を比較することで、セレノメチオニン等の重原子サイト導入のための残基変異を自動で提示する機能の追加を行った。その結果、候補の重原子試薬に付く成功期待値（スコア）の信頼性が改善され、より効率的な重原子誘導体作成が可能になった。

## (2) タンパク質結晶化制御技術の開発（菅原）

タンパク質の結晶化は、溶液中での自発的な核生成に頼っているため積極的な制御が難しい。そこで本技術開発では、結晶核生成を制御するある種の固体物質（結晶化触媒）上で結晶化を起こさせ、良質な結晶を短期間で成長させることを目指す（特願 2005-242688「ゼオライトを用いたタンパク質結晶化方法」、菅原道泰、平成 17 年 8 月 24 日）。平成 18 年度は合成ゼオライトを結晶化触媒に使った予備実験をさらに進めた。その結果、5 種類のタンパク質についてゼオライト依存的な結晶生成が認められた。その中にはゼオライト依存的に別の空間群の高分解能結晶が生成した例もあり、合成ゼオライトによる結晶化制御の有効性が示された。

## (3) タンパク質結晶の性質改善技術の開発（水谷）

タンパク質結晶構造解析において結晶の性質改善は難題の一つである。本技術開発では、試料タンパク質分子中の結晶パッキングに関わるアミノ酸残基への部位特異的変異導入により結晶の性質改善を試みる。平成 18 年度は解析済み構造（PH0725）の結晶コンタクト部位の検討により結晶パッキングが改善されると考えられる変異体 48 種類を作成し、それらの結晶構造解析を行った。その結果、明らかに分解能が改善した変異体が少なくとも 4 種類得られた。結晶パッキングに関係ない箇所に導入した場合ではそのような変異体が得られなかった。従って、結晶パッキングに関わるアミノ酸残基への変異導入により実際に結晶の性質改善が可能であることが示された。

## (4) タンパク質結晶重原子化技術の開発（菅原）

タンパク質結晶の重原子化は結晶解析のボトルネックの一つである。本技術開発では、部位特異的変異導入を原理とする確実な重原子結合残基導入法の検討を行う。平成 18 年度は、解析済み構造（PH0725 および TTHB049）の重原子結合が改善されると考えられる変異体 193 種類を作成し、それらの結晶構造解析を行った。その結果、重原子結合やセレノメチオン導入に適した構造の情報が蓄積された。

## (5) タンパク質結晶自動生成システムの開発（浅田、清水）

より解析困難なタンパク質に対応するための新しい結晶化システムの開発を進めた。結晶化ロボット TERA の開発により、タンパク質結晶化スクリーニングは人が行う場合と比べ 10 倍程度効率化された。しかしながら、人の判断を必要とする結晶スコア付けがボトルネックとなっている。これまで結晶化ウェルの顕微鏡写真を画像解析することによる自動スコア付けが検討されてきたが、未だ実用的なものができていない。また、TERA を含めほとんどの結晶化スクリーニングで用いられているスパースマトリクス法では探索する条件が限られているため、スクリーニングが不完全である。これらの問題点を本質的に解決するために、タンパク質結晶自動生成システムの開発を行った。

結晶化条件自動決定装置の開発。タンパク質の結晶化条件のスクリーニングは究極的にはフルマトリクス法によって行われるべきであるが、探索空間が膨大である点が問題である。本技術開発では、結晶化剤添加に伴う試料タンパク質の沈殿現象（沈殿テスト）を利用し、探索空間を大幅に絞ることでフルマトリクス法の欠点を克服する。平成 18 年度は、レーザー光散乱を利用してタンパク質の沈殿現象を自動的に評価する技術を確認し、結晶化条件自動決定

装置のプロトタイプを作製した。

自動結晶スコア付け装置の開発。結晶スコアのうち 9 割程度は 0（何もない）である。従って、0 を確実に自動判定することができれば、人によるスコア付けの効率は飛躍的に改善すると考えられる。結晶でないものを確実に判定する観点から開発を行う。平成 18 年度は、画像解析によりスコア 0 を確実に自動判定する技術を確認し、自動結晶スコア付け装置のプロトタイプを作製した。

## (6) 非接触 X 線回折能評価技術の開発（菅原）

結晶の X 線回折能を客観的に評価することは、作業者の技術に依存するため難しい。そこで、キャピラリー内で結晶化から回折能評価まで全て行うことで作業者の違いによる結果のばらつきを改善する。平成 18 年度は、モデルタンパク質を使った予備検討を行った。TTHB049 を用いた予備実験の結果、結晶化・クライオプロテクト処理・回折計へのマウントとフラッシュクーリング・回折データ測定までの一連の作業を 1 本のキャピラリー内で行うことに成功した（特願 2007-093400「X 線結晶構造解析用キャピラリー及びそれを用いたタンパク質結晶試料の調製方法」、菅原道泰、平成 19 年 3 月 30 日）。クライオプロテクト処理は当チームで開発した汎用クライオプロテクト（Sugahara *et al.* (2006) *Acta Cryst. D* **62**, 520–526; 特願 2005-188704「新規クライオプロテクトおよびその使用」、菅原道泰、平成 17 年 6 月 28 日）を使用する。

## (7) 構造解析パイプラインの構築と運用（浅田、清水、菅原、山本）

構造解析パイプラインは 5 名のパートタイマー解析者（構造解析未経験）から構成され、平成 18 年度はモデルタンパク質 PH0725 および TTHB049 の変異体解析に特化したシステムとした。発現精製の段階はパートタイマーではなくある程度熟練した派遣社員が行い、1 人の研究者がスケジューリングを担当する。結晶化から構造精密化まではパートタイマーの解析者が行う。流れ作業ではなく、解析者 1 人が 1 つの変異体の構造決定を結晶化から構造精密化まで担当することで解析者の自発性が促される。ただし、1 つの変異体には必ず 1 人の研究者が責任者として割り当てられており、モデリングの一部など難易度の高い局面はその研究者が行う。進捗は専用の LIMS によって管理されており、解析者が作業するとその作業ログから自動で進捗が入力されるようになっている。解析者が LIMS に手入力する必要がないため熟練の必要がなく、またヒューマンエラーが回避される。1 つの変異体の責任研究者は解析の完了した構造座標を点検し、リーダーに所定の様式で提出する。リーダーは PDB 登録前の構造座標を当チームで開発したモデルチェックプログラムを用いて確認し、内容について最終責任を持つ。PDB 登録は責任研究者が行う。この構造解析パイプラインを運用することで、平成 18 年度は変異体 72 件の PDB 登録を行うことができた。解析途中のものを除くと解析成功率は 9 割程度であった。

<sup>\*1</sup> 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 164 proteins mainly from bacteria.

(1) Dimeric core structure of modular stator subunit E of archaeal H<sup>+</sup>-ATPase (Lokanath *et al.* (2007) *J. Mol. Biol.* **366**, 933–944). H<sup>+</sup>-ATPase, also called as proton pump, actively transports protons across membranes in cells. Archaeal H<sup>+</sup>-ATPase (A-ATPase) is closely related to a similar enzyme of the internal cell membranes in higher animals, where it is responsible for maintaining the acidic environment required for many cellular processes, and plays an important role in the spread of cancer and in bone resorption, hence osteoporosis. H<sup>+</sup>-ATPases use the energy released in breaking the chemical bond to the terminal phosphate in the universal energy molecule adenosine triphosphate (ATP) to power the transfer of a proton (H<sup>+</sup>) across a membrane. They are constructed out of many different protein-chain subunits—nine in the archaeal version (A-ATPase) studied. The proton transport part of the complex spans the membrane, and the ATPase part is attached to it by means of a protein spike, known as a stator. It is through this stator that the energy of ATP-breakdown is linked to proton transport. Until now, neither the structure, nor even the numbers of stators per A-ATPase complex were known. From previous work, the heart of the stator was known to be a protein chain called subunit E. Here we determined the first crystal structure of subunit E. The relationship of subunit E with another stator protein chain, subunit H, was studied also using electrophoresis, mass spectrometry, amino acid sequencing and circular dichroism spectroscopy, which measures the coiling of proteins. We found that the ends of two subunit E chains bind together to form a two-part or dimeric working core of the stator structure. The two other ends of subunit E bond either with subunit H or directly to the proton transfer part of the complex. It has been suggested that subunit E, subunit H, and at least two other subunits in other H<sup>+</sup>-ATPases fit together like modular building blocks, and can be used to make the stator longer or shorter to match the other structures of the complex.

(2) Crystal structure of RecA superfamily ATPase PH0284 from *Pyrococcus horikoshii* OT3 (Bagautdinov *et al.* (2006) *Acta Cryst. F* **62**, 412–414; Bagautdinov *et al.* (2006) 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto, Japan). The circadian (daily) protein clocks are found in cyanobacteria where complex of the KaiA, KaiB and KaiC proteins generate the circadian rhythms. We determined the crystal structure of KaiC homologue PH0284 protein from *Pyrococcus horikoshii* OT3. The archaea are usually found in extreme environments for which the daily cycles would not appear to be adaptive. It is likely that PH0284 has a distinct but closely related regulatory function with the circadian clock. Therefore, characterizing the structures, functions and interactions between the molecular components of the putative regulation system in archaea could

help us to understand much about the evolution of circadian rhythms.

## 2. Technological Development for Structural Genomics

(1) Development of support software for structural analysis. We further enhanced the support software. In the automatic analysis system, the multi-domain molecular replacement function and the automatic model checking function have been added. In the structure evaluation system, the side-chain conformation library and the energy calculation function for non-covalent interactions have been added. In the heavy-atom database system, the reliability of score was improved by taking the information from multiple alignments into account.

(2) Development of the controlling method for protein crystallization. Zeolite-mediated protein crystallization was investigated. Five proteins showed the zeolite-dependent crystallization, indicating the effectiveness of this method.

(3) Development of the method for crystal quality improvement. We systematically examined the improvement of the resolution of protein crystals by introducing a single mutation to the crystal packing residue so as to provide more favourable packing interactions, using a model system of PH0725 protein. It has been shown that the crystal quality can be improved actually by introducing a proper single mutation to the crystal packing residue.

(4) Development of heavy-atom derivatization method. In order to develop a systematic method for heavy-atom derivatization by introducing mutations, many mutants for PH0725 and TTHB049 proteins were prepared and their crystal structures were determined, which include extensive Leu-Met mutants for the preparation of selenomethionine-substituted proteins.

(5) Development of automatic crystal production system. To overcome the incompleteness of the sparse matrix crystallization screening, we are developing the automatic crystallization set-up system with a full-matrix screening method. We are also developing the automatic crystal scoring system with high reliability. Prototype machines have been developed in this fiscal year.

(6) Development of capillary crystal analysis system. In order to evaluate the quality of protein crystals with high accuracy, we are developing the capillary crystal analysis system in which all steps from the crystallization to the data collection are performed in a capillary. Preliminary experiments have been performed.

(7) Establishment of the structural analysis pipeline using part-timers. A complete structural analysis pipeline from the protein production to the PDB deposition have been constructed and applied for the routine structural analysis for mutant proteins. We determined 72 mutant structures using this pipeline in this fiscal year.

---

### 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  
Ms. Toshimi KAMIYA  
Mr. Yoshinori MATSUURA  
Ms. Yuko MORIKAWA  
Mr. Takano NAKAMOTO  
Ms. Naoko ONO  
Mr. Hiroki SHIMADA  
Ms. Midori TAKETA  
Ms. Yukiko TANAKA

---

### Visiting Members

Mr. Masahiko BANDO (Otsuka Pharm. Co., Ltd)  
Dr. Khoon-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. Tapas K. Kundu (Jawaharlal Nehru Centre for Advanced Scientific Research, Bangalore, India)  
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

Sugahara M. and Kunishima N.: "Novel versatile cryoprotectants for heavy-atom derivatization of protein crystals", *Acta Cryst. D* **62**, 520–526 (2006). \*

Bagautdinov B. and Kunishima N.: "Purification, crystallization and preliminary crystallographic analysis of RecA superfamily ATPase PH0284 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", *Acta Cryst. F* **62**, 412–414 (2006). \*

Lokanath N. K. and Kunishima N.: "Purification, crystallization and preliminary X-ray crystallographic analysis of the archaeal phosphoglycerate mutase PH0037 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", *Acta Cryst. F* **62**, 788–790 (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). \*

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**, 173–177 (2007). \*

Bagautdinov B., Sugahara M., and Kunishima N.: "Purification, crystallization and preliminary crystallographic analysis of archaeal 6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase homologue PH0634 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", *Acta Cryst. F* **63**, 15–17 (2007). \*

Sugahara M., Murai S., Sugahara M., and Kunishima N.: "Purification, crystallization and preliminary crystallographic analysis of the putative thiamine-biosynthesis protein PH1313 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", *Acta Cryst. F* **63**, 56–58 (2007). \*

Iimura S., Umezaki T., Takeuchi M., Mizuguchi M., Yagi H., Ogasahara K., Akutsu H., Noda Y., Segawa S., and Yutani K.: "Characterization of the denatured structure of pyrrolidone carboxyl peptidase from a hyperthermophile under nondenaturing conditions: role of the C-terminal  $\alpha$ -helix of the protein in folding and stability", *Biochemistry* **46**, 3664–3672 (2007). \*

Lokanath N. K., Matsuura Y., Kuroishi C., Takahashi N., and Kunishima N.: "Dimeric core structure of modular stator subunit E of archaeal H<sup>+</sup>-ATPase", *J. Mol. Biol.* **366**, 933–944 (2007). \*

国島 直樹: "ピオチンプロテインリガーゼの結晶構造から見たピオチンの活性化", *日本結晶学会誌* **48**, No. 5, pp.354–358 (2006). \*

### 口 頭 発 表 Oral Presentations

(国際会議等)

Bagautdinov B. and Kunishima N.: "Crystal structure of RecA superfamily ATPase PH0284 from *Pyrococcus horikoshii* OT3", 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<sup>+</sup>-ATPase from *Pyrococcus horikoshii* OT3", 2006 Meeting of the American Crystallographic Association (ACA 2006), Honolulu, USA, July (2006).

Bagautdinov B. and Kunishima N.: "Crystal structures of the biotin protein ligase and biotin carboxyl carrier protein from *Pyrococcus horikoshii* OT3: stages of biotin activation and biotinylation", 2006 Meeting of the American Crystallographic Association (ACA 2006), Honolulu, USA, July (2006).

Shimizu K., Fujimoto Y., Sugahara M., and Kunishima N.: "Dimeric structural significance for ligand binding in putative peptidyl-tRNA hydrolase 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., Katoh E., 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).

Lokanath N. K., Nakamura M., Ohshima N., Takio K., and Kunishima N.: "First crystal structure of the 2-dehydro-3-deoxy-D-gluconate 5-dehydrogenase", 5th East Asian Biophysics Symposium and 44th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (EABS and BSJ 2006), Okinawa, Nov. (2006).

Bagautdinov B., Sugahara M., and Kunishima N.: "Structure of 6-pyruvoyl tetrahydrobiopterin synthase from *Pyrococcus horikoshii* OT3: novel oligomerisation and substrate binding modes", 5th East Asian Biophysics Symposium and 44th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan (EABS and BSJ 2006), Okinawa, Nov. (2006).

(国内会議)

田中 智之, 澤野 雅英, 小笠原 京子, 坂口 安史, Bagautdinov B., 加藤 悦子, 新海 暁男, 横山 茂之, 油谷 克英: "150 近くに变性温度をもつ超安定なCutA1蛋白質の熱安定化は分子内イ

オン結合による", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).

飯村 哲史, 梅畚 太郎, 竹内 誠, 水口 峰之, 小笠原 京子, 野田 康夫, 瀬川 新一, 油谷 克英: "Pyrrolidone carboxyl peptidaseのC末端 ヘリックスのフォールディングと安定性における役割", 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 4月 (2006).

山本 等, 三輪 洋司, 国島 直樹: "Crystal structure of glucose-6-phosphate isomerase from *Thermus thermophilus* HB8, which exists in monomer-dimer equilibrium in solution", 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).

水谷 尚志, 国島 直樹: "高度好熱菌由来HpcC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).

浅田 征彦, 高 秀幸, 国島 直樹: "モデルチェックソフトウェアの開発", 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).

菅原 道泰, 山本 等, 清水 勝美, 浅田 征彦, 国島 直樹: "ハイスループット結晶-構造パイプラインの構築", 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).

田中 智之, 澤野 雅英, 竹平 美千代, 小笠原 京子, 坂口 安史, Bagautdinov B., 加藤 悦子, 新海 暁男, 横山 茂之, 油谷 克英: "150 近くに変性温度をもつ超安定なCutA1蛋白質の構造特性", 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).