

機関番号：31603

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20570104

研究課題名(和文) クレン古細菌が産生する相補性トレオニン tRNA 合成酵素の構造と機能
研究課題名(英文) Structure and function of two different threonyl-tRNA synthetases of crenarchaea

研究代表者：竹中章郎 (Akio Takénaka)

いわき明星大学・薬学部・教授

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・特任教授

研究者番号：80016146

研究成果の概要(和文)：

トレオニル-tRNA 合成酵素(ThrRS)は、タンパク質合成系において tRNA^{Thr} をアミノアシル化し、間違えて取り付けたアミノ酸を取り外す編集という重要な機能を担っている。ThrRS は通常三つのドメイン(編集ドメイン、触媒ドメイン、アンチコドン結合ドメイン)構造によって構成されている。多くの生物は20種類のアミノ酸それぞれに対して1種類の ThrRS 遺伝子を持っている。しかし、クレン古細菌に属する少種類の生物は2種類の異なる遺伝子をゲノム内に持っていることが見いだされた。ThrRS-1 には C ドメインと A ドメインがあるが E ドメインがなく、ThrRS-2 には E ドメインと A ドメインがあるが C ドメインがない。これらの生物では、ThrRS-1 がアシル化の触媒反応を進め、ThrRS-2 がアシル化後の編集機能を果たすことになり、通常は1種類の ThrRS が行なう機能を ThrRS-1 と ThrRS-2 で分担していることを示唆している。本研究では、このような2種類の酵素に機能分担の立体構造を明らかにするために、クレン古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 (*Ap*)と *Sulfolobus tokodaii* strain 7 (*St*)それぞれの ThrRS-1 と ThrRS-2 の X 線解析を行った。分解能 2.3 Å で解析に成功した *Ap*ThrRS-1 の結晶構造から、*Ap*ThrRS-1 には E ドメインがなく、C ドメインと A ドメインで構成されていて、2分子の *Ap*ThrRS-1 が C ドメイン間で会合して二量体を形成していることを明らかにした。この事実から、*Ap*ThrRS-1 は cat 型の ThrRS であることが判明した。したがって ThrRS-2 は edt 型の ThrRS であり、ThrRS-1 と ThrRS-2 の2分子で機能を分担していると結論できる。*Ap*ThrRS-2 のアミノ酸配列を他の生物種の ThrRS の配列と比較すると、E ドメインはバクテリアや真核生物の ThrRS の E ドメインとは相同性がない。真性古細菌 *Pyrococcus abyssi* の ThrRS の E ドメインと相同性がある。この真性古細菌の E ドメインの構造は、バクテリアや真核生物とは全く異なっていて、E ドメイン同士で二量体を形成する可能性がある。本研究で行なったゲルろ過実験は ThrRS-1 が二量体を形成することを実証した。ThrRS-1 同士、ThrRS-2 同士はそれぞれ二量体を形成することが明らかになった。反応の連携という見地からは、ThrRS-1 と ThrRS-2 の間での相互作用が期待される。しかし、ThrRS-1 と ThrRS-2 の間の相互作用は観測されず、それぞれが独立に機能していることが考えられる。tRNA^{Thr} との相互作用も調べた結果、ThrRS-1 と ThrRS-2 どちらも tRNA に結合するが、ThrRS-1 の方が強く tRNA^{Thr} に結合することがわかった。おそらく tRNA^{Thr} の CCA 末端にアミノ酸がアシル化されると ThrRS-2 の方がより強く結合するものと推定した。tRNA^{Thr} と ThrRS-1 および tRNA^{Thr} と ThrRS-2 の複合体結晶の調製に成功したので、近い将来 ThrRS-1 と ThrRS-2 の tRNA^{Thr} との結合様式の相違が明らかになるであろう。

研究成果の概要(英文)：

Threonyl-tRNA synthetase (ThrRS) plays an essential role in protein synthesis by catalyzing aminoacylation of tRNA^{Thr} and by editing misacylation. ThrRS is generally composed of the three domains, an N-terminal editing domain, a catalytic domain and an anticodon-binding domain. In general, an organism possesses one kind of gene for ThrRS. However, it has been recently found that some organisms have two different genes for ThrRS in the genome, suggesting that their proteins ThrRS-1 and ThrRS-2 function separately and complement each other in threonylation of tRNA^{Thr}; one for catalysis and the other for editing of misacylated Ser-tRNA^{Thr}. From sequence alignment of ThrRS-1 and ThrRS-2 with those of other organisms, we have found that the editing domain in ThrRS from archaea are different from those in bacteria and eukaryotes. Furthermore, in several crenarchaea including *Aeropyrum pernix* K1 and *Sulfolobus tokodaii* strain 7, each contains two genes encoding either the

catalytic or the editing domains of ThrRS. In order to clarify the structural basis for the evolutionary divergence, the two types of ThrRSs from crenarchaea *Aeropyrum pernix* and those from *Sulfolobus tokodaii* (*Ap*ThrRS-1, *Ap*ThrRS-2, *Sf*ThrRS-1 and *Sf*ThrRS-2) have been overexpressed in *Escherichia coli*, purified and successfully crystallized by the hanging-drop vapor-diffusion method. Diffraction data were collected, and the structure of selenomethionine-labeled *Ap*ThrRS-1 crystal has been solved using the MAD method, and the atomic parameters were refined by the least-squares method at 2.3 Å resolution. *Ap*ThrRS-1 is a dimeric enzyme composed of two identical subunits, each containing two domains for the catalytic reaction and for anticodon binding. The essential editing domain is completely missing as expected. These structural features reveal that ThrRS-1 catalyzes only the aminoacylation of the cognate tRNA, suggesting the necessity of the second enzyme ThrRS-2 for editing. Since the N-terminal sequence of *Ap*ThrRS-2 is similar to the sequence of the editing domain of ThrRS from *Pyrococcus abyssi*, *Ap*ThrRS-2 has been expected to catalyze deaminoacylation of a misacylated serine moiety at the CCA terminus. The tertiary structure of ThrRS-2 was constructed based on the sequence alignment with similar protein, based on which the dimer structure formed between the two editing domains. Gel shift assay experiments shows that ThrRS-1 and ThrRS-2 do not interact to form a dimer and that each forms a self dimer. Furthermore, we have found that tRNA^{Thr} interacts to both, but ThrRS-1 is strongly bound to tRNA^{Thr}. Finally we succeeded to crystallize the complexes between tRNA^{Thr} and ThrRS-1 and between tRNA and ThrRS-2, respectively. X-Ray analyses of these crystals will reveal the interaction geometry from which the specificities of ThrRS-1 and ThrRS-2 to tRNA^{Thr} will be clarified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：生物科学

科研費の分科・細目：構造生物化学

キーワード：アミノアシル tRNA 合成酵素, タンパク質合成系, X線結晶解析, クレン古細菌, トレオニル tRNA 合成酵素

1. 研究開始当初の背景

DNA RNA→タンパク質という方向に沿って 遺伝情報に記された設計図どおりに正確にタンパク質を産生するという翻訳過程は、生命科学の中心課題のひとつとして、多くの構造研究が展開されてきた。これを解明することは、生命の原点と多様化ならびに高機能化の仕組みを理解したいという知的欲望を満たすだけにとどまらず、疾病の治療や遺伝子操作、さらに新しい人工分子素材の開発など、その応用範囲はきわめて広く、諸種の産業技術の発展に連鎖するものであり、その波及効果と社会的意義は計り知れない。このようなタンパク質合成系において核酸の世界とタンパク質の世界を橋渡しているのが、アミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS と略記、aa はアミノ酸を表す) である。これらは一般に 20 種類のアミノ酸に対応して 20 種類の

aaRS が存在することが知られている。これらの立体構造研究は、日本の Yokoyama と Nureki グループ、フランスの Moras グループ、Blanquet グループ、Cusack グループ、米国の Steiz と Soell のグループ、Carter グループ、Schimmel グループらによって激しい競争が展開された結果、ほとんどがやり尽されたように見えるが、以下に記す例を含めて解明すべき重要な問題がまだ多く山積の状態である。

生命は共通の祖先を原点に進化してきたと考えられているが、その実態は複雑怪奇である。タンパク質合成系も同様である。上述した 20 種類の aaRS の存在はほとんどの生物種で確認されている。しかし、進化的にはヒトを含む真核生物に近いと言われている古細菌では事情が異なる。本研究課題で取り上げるクレン古細菌 (*Sulfolobus tokodaii* [St])

と *Aeropyrum pernix* [Ap] では、20 種類のアミノ酸のうち Asn と Gln に対する RS の遺伝子が存在しない。一方、Thr に対する遺伝子が 2 種類存在する、ということを経ノム解析によって指摘した。アスパラギニル-tRNA^{Asn} (以下 Asn-tRNA^{Asn} と略記) の合成では、AsnRS の代わりに AspRS が tRNA^{Asp} と tRNA^{Asn} の両方に Asp をアシル化し、その後ミスチャージした Asp-tRNA^{Asn} の Asp を GatDE というタンパク質が Asn に変換する。問題はこの AspRS が tRNA^{Asp} と tRNA^{Asn} の両方のアンチコドン認識しなければならないことであり、我々は AspRS の X 線解析によって、両方のアンチコドン認識する仕組みを明らかにし、同時に進化的な側面も明らかにした (*Acta Cryst.*, **D63**, 1042; **F63**, 608, 2007)。

これらの生物種が産生するトレオニル tRNA 合成酵素 (ThrRS) も非常にユニークな特徴をもっている。ThrRS は、アンチコドン認識ドメイン (A) とアシル化反応を行う触媒ドメイン (C)、そしてミスチャージしたアミノ酸を切除する編集ドメイン (E) の 3 部分で構成されることが知られている。しかし、何種類かのクレン古細菌では、tRNA のトレオニル化には 2 種類のトレオニル tRNA 合成酵素 (ThrRS-1 と ThrRS-2) が使われている。これらのアミノ酸配列の比較研究から、ThrRS-1 と ThrRS-2 はどちらも A ドメインを保有しているが、ThrRS-1 では E ドメインがなく、ThrRS-2 では C ドメインがないことを我々は見いだした。つまり ThrRS-1 は触媒機能だけを、ThrRS-2 は編集機能だけを保持し、通常は 1 種類のタンパク質が行う反応を 2 種類の ThrRS で分担し合って相補的に機能すると考えられる。しかし、それを実証する構造研究はまだ行われていない。このオリジナリティーを展開し、上記 2 種類の ThrRS の立体構造を明らかにして、機能と反応機構を提言するとともに、進化的関係も明らかにすることは、タンパク質合成系の進化的側面を知る上で非常に重要である。

2. 研究の目的

本研究では、クレン古細菌が産生する 2 種類のトレオニル tRNA 合成酵素 (ThrRS-1 と ThrRS-2) の構造研究に取り組む。上記 2 種類の ThrRS の立体構造を明らかにして、機能と反応機構を提言するとともに、進化的関係も明らかにすることを、本研究の目的としている。

3. 研究の方法

クレン古細菌 *Sulfolobus tokodaii* strain 7 の遺伝子 ST0966 は TheRS-1、遺伝子 ST2187 は ThrRS-2 に対応する。一方、クレン古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 の遺伝子 AP0809 は

TheRS-1、遺伝子 AP0117 は ThrRS-2 に対応する。これら 4 種類のタンパク質のアミノ酸配列の特徴を明らかにするために、他の生物種の ThrRS のアミノ酸配列との比較を行なった。上記 4 種類の遺伝子を大腸菌内で発現させ、分離精製した。これらのタンパク質を用いて結晶化条件の検索実験を行い、結晶性の析出物が得られた条件の近辺で高分解能の X 線回折が測定できる良質の結晶を得るために、条件の最適化実験を行なった。得られた結晶の質を調べるために、現有の超強力 X 線回折装置を用いて X 線回折実験を行った。結晶の質と結晶化条件との関係を検討し、結晶化条件のさらなる最適化を行った。得られた 4 種類の ThrRS 結晶 (ApThrRS-1, ApThrRS-2, StThrRS-1, StThrRS-2) について、高エネルギー加速器研究機構の放射光を用いて X 線回折強度データの測定を行った。位相決定のために、セレノメチオニン誘導体の良質結晶も同様の方法で調製した。特に St 由来の ThrRS-2 は他の ThrRS とアミノ酸配列の相溶性が低いので、MAD/SAD 法が必須であるとした。位相決定の確度を補償するために、さらに重金属 (Co, Zn, Hg) 誘導体も調製した。

4 種類の ThrRS のうち *Aeropyrum pernix* の ThrRS-1 の結晶構造について、MAD/SAD 法による位相決定に成功した。得られた電子密度図に合わせてタンパク質分子の六対構造を組み立て、原子パラメータを最小二乗法で精密した。ThrRS-2 の構造については、配列の相同性を利用して立体構造モデルを作製した。一方、フランス IGBMC の Dino Moras のグループとの連携研究において、ThrRS-1 と ThrRS-2 の間の相互作用をゲルシフト検定で調べた。また、これら 2 種類と tRNA との間での複合体形成能を調べた。

4. 研究成果

4 種類の ThrRS (ApThrRS-1, ApThrRS-2, StThrRS-1, StThrRS-2) を他の生物種の ThrRS と比較した結果、ThrRS-1 では E ドメインを構成する遺伝子が欠落し、ThrRS-2 では C ドメインの遺伝子が欠落している、ThrRS-1 と ThrRS-2 は互いに失われた機能を相補しうるということが明らかになった。また、結晶化実験では、4 種類 ApThrRS-1, ApThrRS-2, StThrRS-1, StThrRS-2 の結晶化にも成功した。これらの結果をまとめた論文を *Acta Crystallogr.*, **F64**, 903-910 (2008) に発表した。

ApThrRS-1 の立体構造を高分解能 2.3 Å で決定することに成功した。2 分子のタンパク質 (サブユニット) が触媒ドメイン同士で会合して二量体を形成し、アンチコドン結合ドメイン同士が互いに反対方向に伸びている。配列比較から議論したように、通常の ThrRS を構成する 3 個のドメイン (編集, 触媒, アンチコドン結合) のうち、Ap-ThrRS-1 ではシ

ス型編集ドメインが存在していない。触媒ドメインおよびアンチコドン結合ドメインは大腸菌由来の *Ec*-ThrRS と立体構造がよく似ていて、ThrRS-1 は真正細菌由来の遺伝子からできていることが明らかになった。さらに tRNA^{Thr} のアンチコドン認識に必須の保存性アミノ酸残基を見いだすことができた。以上の特徴から、ThrRS-2 がトランス型編集の機能を演じていると予測される。しかし、他のトランス型 ARS が編集のみの単機能タンパク質であるのに比べると、ThrRS-2 はアンチコドン結合ドメインを保持するという新しいタイプのトランス型編集タンパク質であると言える。そのアミノ酸配列の比較から ThrRS-2 が古細菌由来の遺伝子であること、しかし tRNA^{Thr} のアンチコドン認識に必須の保存性アミノ酸残基が真正細菌型と同じであるという興味ある事実を見いだすことができた。触媒ドメインの活性部位には 1C2H 型の Zn フィンガーが使われているのが明らかになった。この触媒部位は *Ec*-ThrRS のものと似ていて、周りのアミノ酸残基もよく保存されている。アンチコドン結合ドメインも、*Ec*-ThrRS のものとよく似ていて、アンチコドンに結合する残基が保存されていることが分かった。以上の構造的な特徴から *Ap*-ThrRS-1 は cat 型で、トレオニン以外にセリンも tRNA^{Thr} に結合させる可能性があることが立体構造から明らかとなった。

Ap-ThrRS-1 の立体構造については、2008 年 8 月に大阪で開催された国際結晶学連合大会にて発表した。また 2009 年には、トルコのイスタンブールで開催された ECM25(ヨーロッパ結晶学会)でも発表した。数多くの申込みの中から幸いにも Microsymposia の FA1 (オーラル発表)に招待され、講演後は世界最先端の結果として大喝采を浴びた。これらの結果を議論した論文が学術雑誌に受理され出版された [*J. Mol. Biol.*, **394**, 286-296 (2009)]。

ThrRS-2 結晶については、Se 誘導体および Zn 誘導体結晶を得ることに成功した。しかし、いずれの結晶も結晶性が低く、また X 線回折データの分解能も低いために構造決定計算では困難を極めた。分解能を向上させるために、タンパク質の発現系および精製過程を見直し良質の結晶が得られるようになった。1 次構造の比較から、ThrRS-2 は古細菌と高い相同性を示すことを見出した。ゲルシフト検定実験によって、ThrRS-2 も ThrRS-1 と同様に二量体を形成していることを明らかにし、その立体構造を推定した。ThrRS-2 も二量体を形成しているが、その界面は E ドメイン同士の間で造られていて、C ドメイン間で二量体を形成する ThrRS-1 の場合とは全く異なっていることを明らかにした。

フランス IGBMC の Dino Moras のグループとの共同研究では、ThrRS-1 と ThrRS-2 は互いに結合して複合体を形成するのではなく、それぞれが独立に存在することを明らかにした。本研究の次のステップのために tRNA との複合体形成実験を行い、アシル化前の tRNA は ThrRS-2 よりも ThrRS-1 に強く結合し、アシル化後の tRNA を ThrRS-2 が識別して対応しないアミノ酸を脱アシル化する反応機構を明らかにした。tRNA と ThrRS-1 あるいは ThrRS-2 との複合体の結晶化条件を見つけることにも成功した。今後は ThrRS-2 の構造を決定するとともに、これら tRNA との複合体結晶の立体構造も明らかにすることによって、相補的に機能する 2 種類の ThrRS の反応機構が確立すると共に、このような 2 種類の ThrRS を使う生物種の進化的関連も明らかになるであろう。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 16 件、 は本研究課題に直接関連する論文)

(1) Satoru Shimizu, Ella Czarina Magat Juan, Yu-ichiro Miyashita, Yoshiteru Sato, Kaoru Suzuki, Masataka Yogiashi, Masaru Tsunoda, Anne-Catherine Dock-Bregeon, Dino Moras, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "Crystallographic study on two types of putative threonyl-tRNA synthetases from crenarchaea *Aeropyrum pernix* and those from *Sulfolobus tokodaii*", *Acta Crystallogr.*, **F64**, 903-910 (2008)

(2) Ella Czarina Magat Juan, Md Mominul Hoque, Satoru Shimizu, Md Tofazzal Hossain, Tamotsu Yamamoto, Shigeyuki Imamura, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Hitoshi Amano, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "Structures of *Arthrobacter globiformis* urate oxidase-ligand complexes", *Acta Crystallogr.*, **D64**, 815-822 (2008)

(3) Md Mominul Hoque, Satoru Shimizu, Md Tofazzal Hossain, Tamotsu Yamamoto, Shigeyuki Imamura, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Hitoshi Amano, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "The structures of *Alcaligenes faecalis* D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase before and after NAD⁺ and acetate binding suggest a dynamical reaction mechanism as a member of the SDR family", *Acta Crystallogr.*, **D64**, 496-505 (2008)

(4) Haruo Tanaka, Harumi Chiba, Junji Inokoshi, Atsushi Kuno, Takahiro Sugai, Atsushi Takahashi, Yukishige Ito, Masaru Tsunoda, Kaoru Suzuki, Akio Takénaka, Takeshi Sekiguchi, Hideaki Umeyama, Jun Hirabayashi and Satoshi Omura, "Mechanism by which the lectin actinohivin blocks HIV infection of target cells", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**,

15633-15638 (2009)

(5) Satoru Shimizu, Ella Czarina Magat Juan, Yu-ichiro Miyashita, Yoshiteru Sato, Md. Mominul Hoque, Kaoru Suzuki, Tsubasa Sagara, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi, Anne-Catherine Dock-Bregeon, Dino Moras and Akio Takénaka, "Two complementary enzymes for threonylation of tRNA in crenarchaeota; crystal structure of *Aeropyrum pernix* threonyl-tRNA synthetase lacking a cis-editing domain", *J. Mol. Biol.*, **394**, 286-296 (2009)

(6) Satoru Shimizu, Masanori Ohki, Nami Okubo, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "Crystallization and preliminary crystallographic studies of putative RNA 3'-terminal phosphate cyclase from crenarchaeon *Sulfolobus tokodaii*", *Acta Crystallogr.*, **F65**, 565-570 (2009)

(7) Md. Mominul Hoque, Satoru Shimizu, Ella Czarina Magat Juan, Yoshiteru Sato, Md. Tofazzal Hossain, Tamotsu Yamamoto, Shigeyuki Imamura, Kaoru Suzuki, Hitoshi Amano, Takeshi Sekiguchi, Masaru Tsunoda and Akio Takénaka, "Crystal structure of D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase, prepared in the presence of the substrate D-3-hydroxybutyrate and NAD⁺", *Acta Crystallogr.*, **F65**, 331-335 (2009)

(8) Satoru Shimizu, Ella Czarina Magat Juan, Yu-ichiro Miyashita, Yoshiteru Sato, Md. Mominul Hoque, Kaoru Suzuki, Tsubasa Sagara, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi, Anne-Catherine Dock-Bregeon, Dino Moras and Akio Takénaka, "Two complementary enzymes for threonylation of tRNA in crenarchaeota; crystal structure of *Aeropyrum pernix* threonyl-tRNA synthetase lacking a cis-editing domain", *J. Mol. Biol.*, **394**, 286-296 (2009)

(9) Masaru Tsunoda, Kaoru Suzuki, Akio Takénaka, Takeshi Sekiguchi, Hideaki Umeyama, Jun Hirabayashi, Satoshi Omura and Haruo Tanaka, "Actinohivin: specific amino acid residues essential for anti-HIV activity", *J. Antibiot.*, doi:10.1038/ja.2010.106 (2010)

(10) Ella Czarina Magat Juan, Satoru Shimizu, Xiao Ma, Taizo Kurose, Tsuyoshi Haraguchi, Fang Zhang, Masaru Tsunoda, Akihiro Ohkubo, Mitsuo Sekine, Takayuki Shibata, Christopher L. Millington, David M. Williams and Akio Takénaka, "Insights into the DNA stabilizing contributions of a bicyclic cytosine analogue: crystal structures of DNA duplex containing 7,8-dihydropyrido[2,3-d]pyrimidin-2-on", *Nucl. Acids Res.*, **38**, 6737-6745 (2010)

(11) Masaru Tsunoda, Takeshi Sakaue, Satoko Naito, Tomoko Sunami, Naoko Abe, Yoshihito Ueno, Akira Matsuda and Akio Takénaka, "Insights into the mutagenic structures of DNA damaged by hydroxyl radical, XI: crystal structures of DNA duplexes containing 5-formyluracil", *J. Nucl. Acids*, doi:10.4061/2010/107289 (2010)

(12) Kaoru Suzuki, Satoru Shimizu, Ella Czarina Magat Juan, Takahiro Miyamoto, Fang Zhang, Md.

Mominul Hoque, Yoshiteru Sato, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, Crystallographic study of wild type carbonic anhydrase α CA1 from *Chlamydomonas reinhardtii*, *Acta Crystallogr.*, **F66**, 1082-1085 (2010)

〔学会発表〕(計 21 件, は本研究課題に直接関連する発表)

(1) Tsuyoshi Haraguchi, Satoru Shimizu, Xiao Ma, Taizo Kurose, Ella Czarina Magat Juan, Akihiro Ohkubo, Mitsuo Sekine, Takayuki Shibata, Christopher L. Millington, David M. Williams and Akio Takénaka, "Crystal structures of DNA duplexes stabilized by bicyclic-C residues", *Nucleic Acids Symp Ser.* **52**, 127-128 (2008)

(2) Satoru Shimizu, Masanori Ohki, Nami Ohkubo, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "Crystal structures of RNA 3'-terminal phosphate cyclase and its complexes with Mg²⁺+ATP, ATP or Mn²⁺", *Nucleic Acids Symp Ser.* **52**, 221-222 (2008)

(3) Kaoru Suzuki, Satoru Shimizu, Risa Ohbayashi, Yoshiteru Sato, Akio Takénaka, Takeshi Sekiguchi and Shi-Yuan Yang, "Crystal structure of α -carbonic anhydrase from *Chlamydomonas reinhardtii*", *Acta Cryst.*, **A64**, C263 (2008)

(4) Akio Takénaka, Satoru Shimizu, Yu-ichiro Miyashita, Yoshiteru Sato, Ella Czarina Magat Juan, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Anne-Catherine Dock-Bregeon, Dino Moras and Takeshi Sekiguchi, "Two threonyl-tRNA synthetases with complementary functions; Crystal structure of ThrRS-1 from *Aeropyrum pernix*", *Acta Cryst.*, **A64**, C311 (2008)

(5) Satoru Shimizu, Masanori Ohki, Nami Ohkubo, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "RNA splicing related proteins; Crystal structure of RNA 3'-terminal phosphate cyclase", *Acta Cryst.*, **A64**, C307 (2008)

(6) Md Mominul Hoque, Satoru Shimizu, Md Tofazzal Hossain, Tamotsu Yamamoto, Shigeyuki Imamura, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Hitoshi Amano, Takeshi Sekiguchi and Akio Takénaka, "The substrate recognition and the catalytic reaction mechanisms of D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase", *Acta Cryst.*, **A64**, C252 (2008)

(7) Tsuyoshi Haraguchi, Satoru Shimizu, Xiao Ma, Taizo Kurose, Ella Czarina Magat Juan, Akihiro Ohkubo, Mitsuo Sekine, Takayuki Shibata, Christopher L. Millington, David M. Williams and Akio Takénaka, "X-Ray analyses of DNA duplexes stabilized by bicyclic-C residues", *Acta Crystallogr.*, **A64**, C298 (2008)

(8) Masaru Tsunoda, Kaoru Suzuki, Sagara Tsubasa, Atsushi Takahashi, Junji Inokoshi, Satoshi Omura, Takeshi Sekiguchi, Akio Takénaka and Haruo Tanaka, "Crystal structure of actinohivin; A novel anti-human immunodeficiency virus protein", *Acta Crystallogr.*,

A64, C237 (2008)

(9) Satoru Shimizu, Yoshiteru Sato, Ella Czarina Magat Juan, Yu-ichiro Miyashita, Tsubasa Sagara, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi, Anne-Catherine Dock-Bregeon, Dino Moras, Akio Takénaka, "X-Ray analyses of two evolutionarily different threonyl-tRNA synthetases which perform a function by supplementing their defects to each other in crenarchaea", *Acta Crystallogr.*, **A65**, s17-18 (2009)

(10) Masaru Tsunoda, Kaoru Suzuki, Tsubasa Sagara, Atsushi Takahashi, Junji Inokoshi, Satoshi Omura, Takeshi Sekiguchi, Haruo Tanaka, Akio Takénaka, "Crystal structures of actinohivin, an anti-HIV protein from an actinomycete, and its complex with mannobiose", *Acta Crystallogr.*, **A65**, s149-150 (2009)

(11) 相良翼, 齊藤彰浩, 高橋淳, 鈴木薫, 関口武司, 角田大, 田中晴雄, 竹中章郎, "新規抗 HIV タンパク質アクチノヒビンのマンノピオースとの共結晶化", 日本結晶学会 2009 年度年会 講演要旨集 116 (2009)

(12) 角田大, 鈴木薫, 相良翼, 高橋淳, 猪腰淳嗣, 大村智, 関口武司, 田中晴雄, 竹中章郎, "放線菌より単離した新規 anti-HIV 蛋白質アクチノヒビンならびにそのマンノピオースとの複合体の X 線構造", 第 82 回日本生化学会大会, 要旨集 4T9p-12 4P-629, 神戸(2009)

(13) 清水了, 大木正則, 大久保奈弥, 鈴木薫, 角田大, 関口武司, 竹中章郎, "RNA プロセシングに關与するタンパク質, RNA3' -末端リン酸基環状化酵素の反応機構", 第 11 回 RNA ミーティング, 要旨集 6, 新潟 (2009)

(14) 坂田誠, 佐々木聡, 竹中章郎, 三木邦夫, 高田昌樹, 吉朝朗, "国際結晶学連合大会 IUCr2008 組織委員会の外務委員会報告", 日本結晶学会誌 **51**, 22-28 (2009)

(15) Akio Takénaka, Masanori Ohki, Nami Okubo, Kaoru Suzuki, Masaru Tsunoda, Takeshi Sekiguchi, Satoru Shimizu, "Structure and reaction mechanism of an enzyme RNA 3'-terminal phosphate cyclase in tRNA splicing", tRNA Workshop, Aveiro, Portugal (2009)

(16) S. Shimizu, Y. Sato, E. C. M. Juan, Y. Miyashita, T. Sagara, K. Suzuki, M. Tsunoda, T. Sekiguchi, A.C.D. Bregeon, D. Moras, A. Takénaka, "X-Ray Analyses of Two Evolutionary Different Threonyl- tRNA Synthetases Which Prefer a Function by Supplementing Their Defects to Each Other in Crenarchaea", 25th European Crystallographic Meeting, ECM25(Istanbul) *Abstract* (2009)

(17) M. Tsunoda, K. Suzuki, T. Sagara, A. Takahashi, J. Inokoshi, S. Omura, T. Sekiguchi, H. Tanaka & A. Takénaka, "Crystal Structures of Actinohivin, an Anti-HIV Protein from an Actinomycete, and its Complex", 25th European Crystallographic Meeting, ECM25(Istanbul) *Abstract* (2009)

(18) Fang Zhang, Kaoru Suzuki, Md. Mominul Hoque, Masaru Tsunoda, Christopher L. Millington, David M.

Williams and Akio Takénaka, "An insight into the pairing geometry of DNA duplexes containing O⁶-carboxymethylguanine, an analogue damaged base relevant to gastrointestinal cancer", ISNAC2010 (The 37th International Symposium in Nucleic Acids Chemistry 2010), *Abstract*, 74-75, Nov. 10-12, Yokohama (2010)

(19) M.M. Hoque, K. Suzuki, M. Tsunoda, A. Takahashi, T. Sekiguchi, H. Tanaka and A. Takénaka, "Crystal structure of anti-HIV actinohivin in complex with 1,2-mannobiose", 日本結晶学会年会講演要旨集, 126, 12月3-5日, 大阪 (2010)

(20) Zhang Fang, Kaoru Suzuki, Md. Mominul Hoque, Masaru Tsunoda, Christopher L. Millington, David M. Williams and Akio Takénaka, "An insight into the pairing geometry of DNA duplexes containing O⁶-carboxymethylguanine, a damaged base analogue relevant to gastrointestinal cancer", AsCA2010 (The 10th Conference of the Asian Crystallographic Association), *Abstract* 169 Oct. 31-Nov. 3, Busan(Korea) (2010)

(21) F. Zhang, K. Suzuki, M.M. Hoque, M. Tsunoda, C.L. Millington, D.M. Williams and A. Takénaka, "Crystal structures of DNA duplexes containing O⁶-carboxymethyl- 2'-deoxy guanosine as an analogue of damaged residue, relevant to gastrointestinal cancer", 日本結晶学会年会講演要旨集, 127, 12月3-5日, 大阪 (2010)

(22) 齊藤彰浩, 鈴木薫, 関口武司, 角田大, 竹中章郎, "古細菌 *Sulfolobus tokodaii* 由来トレオニル tRNA 合成酵素の精製と結晶化構", 平成 22 年度化学系学協会東北大会 (盛岡), 2010 年 9 月 25 日, 講演予稿集 186

(23) A. Takénaka, S. Shimizu, Y. Sato, E. C. M. Juan, Y. Miyashita, T. Sagara, K. Suzuki, M. Tsunoda, T. Sekiguchi, A. C. D. Bregeon, D. Moras, "X-Ray analyses of two evolutionarily different threonyl-tRNA synthetases which perform a function by supplementing their defects to each other in crenarchaea" Sheffield 大学, Centre for Chemical Biology セミナー, 2010 年 10 月 18 日

(24) A. Takénaka, S. Shimizu, Y. Sato, E. C. M. Juan, Y. Miyashita, T. Sagara, K. Suzuki, M. Tsunoda, T. Sekiguchi, A. C. D. Bregeon and D. Moras, "Two complementary enzymes for threonylation of tRNA in crenarchaeota; crystal structure of *Aeropyrum pernix* threonyl-tRNA synthetase lacking a cis-editing domain", IGBMC(フランス国立遺伝学分子細胞生物学研究所)セミナー, 平成 22 年 10 月 23 日,

【図書】(計 4 件)

(1) 竹中章郎・関口武司著, "耐熱酵素のさらなる安定性向上", 酵素利用技術大系 - 基礎・解析から改変・高機能化・産業利用まで -, 小宮山眞監修, ISBN978-4-86043-271-3, 518-522, 株式会社 エヌ・ティー・エス (東京) (2010)

(2) 竹中章郎, "分子の個性を理解する", 研究の目

指すところ - 夢を語る -, 75-86, いわき明星大学
大学院理工学研究科 (2010)

(3) 安達渉, 中村聡, 竹中章郎, "キトサナーゼの基
質特異性と構造", キチン・キトサン開発技術
(2009)

(4) 竹中章郎, 勝部幸輝, 笹田義夫, 若槻壮一共
訳 (J. Drenth 著), "タンパク質のX線結晶解析
法"(第3版), シュプリンガー・ジャパン (2008)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等:

[http://www.iwakimu.ac.jp/~BioSC/NewScience/
Kakenhi-1](http://www.iwakimu.ac.jp/~BioSC/NewScience/Kakenhi-1) /Kakenhi-2008-2010

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹中章郎 (Takénaka Akio)

いわき明星大学・薬学部・教授

東京工業大学・大学院生命理工学研究科・

特任教授

研究者番号: 80016146

(2) 研究分担者

関口武司 (Sekiguchi Takeshi)

いわき明星大学・科学技術学部・教授

研究者番号: 00108193

(3) 連携研究者

Dino Moras (Director)

IGBMC-CNRS, France