

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21370041

研究課題名（和文） トランスアミドソームによる Gln-tRNA (Gln) 合成反応の
多分子協調機構研究課題名（英文） The study on the multi-molecular reaction mechanism of transamidosome
for Gln-tRNA(Gln) synthesis

研究代表者

姚 閔 (YAO MIN)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・教授

研究者番号：40311518

研究成果の概要（和文）：

トランスアミドソームによるアミノアシル tRNA (Gln-tRNA^{Gln}, Asn-tRNA^{Asn}) の間接合成経路における多分子協調機構を解明するため、黄色ブドウ球菌と緑膿菌由来のトランスアミドソームの各構成因子 6 個の大量調製を行い、2 種類のトランスアミドソームを再構し、結晶化を試みた結果、緑膿菌由来の Asn-tRNA^{Asn} トランスアミドソームの構造解析に成功した。得られた結晶構造は、生化学実験と一致して、tRNA^{Asn} : ND-AspRS : GatCAB = 2 : 2 : 2 の割合で構成され、tRNA^{Asn} のアクセプターステムが、ND-AspRS の活性部位に位置していたことから、tRNA^{Asn} がアミノアシル化される前の状態と言え、この後、アクセプターステムがアミノアシル化（ミスチャージ）され、GatCAB の活性部位に向かってフリップすることで、トランスアミドソーム反応が起こると考えられる。

研究成果の概要（英文）：

In order to elucidate the multi-molecular reaction mechanism of transamidosome in the indirect synthetic pathway of aminoacyl tRNA (Gln-tRNA^{Gln}, Asn-tRNA^{Asn}), we over-expressed, purified 6 components of 2 transamidosomes from *S. aureus* and *P. aeruginosa*, respectively, and formed 2 transamidosomes *in vitro*. We succeeded in the structural analysis of Asn-tRNA^{Asn} transamidosomes of *P. aeruginosa*. The structure of Asn-tRNA^{Asn} transamidosomes consisted of tRNA^{Asn}, ND-AspRS and GatCAB with a rate of 2:2:2, according with the result of the biochemistry experiment. The structure shown that acceptor stem of tRNA^{Asn} was located in the active site of ND-AspRS, representing a tRNA-binding situation before aminoacylation (mischarge) of the tRNA^{Asn}. After the aminoacylation, the acceptor stem of tRNA^{Asn} flipped toward the active site of GatCAB for transamidation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2010年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011年度	2,600,000	780,000	3,380,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：蛋白質結晶学，構造生物学，コンピュータ科学

科研費の分科・細目：生物科学・構造生物化学

キーワード：X線結晶解析，多段階反応の協調，トランスアミドソーム，GatCAB，tRNA，GluRS，AspRS，多分子協調機構

1. 研究開始当初の背景

遺伝情報をタンパク質のアミノ酸配列に正確に変換するためには、前提として、20種のアミノ酸が対応する tRNA に結合したアミノアシル tRNA (aa-tRNA^{aa}) が正しく合成される必要がある。aa-tRNA^{aa} は、その後、伸長因子 EF-Tu (原核生物の場合) によりリボソームに運搬され、そこでタンパク質合成に使われる。20 種のアミノ酸を対応する tRNA に正確に結合する役目を担っているのはアミノアシル tRNA 合成酵素 (aaRS) である。これまで 20 種類のアミノ酸に対応して 20 種類の aaRS が存在すると考えられてきた。しかし、実際には、古細菌と多くの真正細菌は Asn-tRNA^{Asn}, Gln-tRNA^{Gln} の合成を触媒する酵素 AsnRS と GlnRS を持っておらず、Asn-tRNA^{Asn}, Gln-tRNA^{Gln} の合成は 2 段階の経路で行われる^(1,2)。すなわち、これらの生物では、Asp-tRNA^{Asp} や Glu-tRNA^{Glu} を合成する酵素が Asp-tRNA^{Asn} と Glu-tRNA^{Gln} をも合成する⁽³⁾。次いでミスチャージされた Asp-tRNA^{Asn} と Glu-tRNA^{Gln} は、amidotransferase (AdT) の働きにより、正常な Asn-tRNA^{Asn} と Gln-tRNA^{Gln} に変換される⁽³⁾。正しく変換された Asn-tRNA^{Asn} と Gln-tRNA^{Gln} は、その後、伸長因子 EF-Tu に引き渡され、リボソームへ運搬されて翻訳に使われる。

遺伝暗号の正確な翻訳は生命にとって基本的に重要な過程である。このため、生命体は、ミス翻訳を防ぐためにさまざまな精密機構を発達させてきた。aaRS は、アミノ酸と tRNA を極めて厳密に識別する。加えて、aaRS の中には (ThrRS, AlaRS, IleRS, LeuRS, ValRS のように)、間違っ て結合したアミノ酸を排除するための校正機構を持つものも知られている。一方、Asn-tRNA^{Asn} と Gln-tRNA^{Gln} が、異なる 2 つの酵素による 2 段階反応で合成される場合、EF-Tu が中間体であるミスチャージされた Asp-tRNA^{Asn} と Glu-tRNA^{Gln} を引き取ると、誤翻訳を起こす危険性がある。それにも関わらず、これらの生物においても翻訳は正しく行われていることから、生物はこの危険性を回避するための特別な仕組みを持っていると考えられる。実際、細胞中には、ミスチャージされた Asp-tRNA^{Asn} と Glu-tRNA^{Gln} は発見されていない。このことから、Asn-tRNA^{Asn}, あるいは Gln-tRNA^{Gln} 合成過程で、2 種類の酵素によって行われている 2 段階の反応は協調して速やかに進むと推定される。多酵素による合成反応は数多く知られているが、翻訳過程における多酵素反応は他に例がなく、本過程の理解は、生命現象の理解にとって基本的に重要である。

DNA の塩基配列とタンパク質のアミノ酸配列を結び付ける「遺伝暗号」は、地球上の生命体が共有する最も重要な特徴の一つである。遺伝暗号の fidelity を担うものとして、Crick は、adapter (tRNA) 仮説とともに aaRS の存在を予言し、実際、20 種の aaRS の存在が確認された。しかし、その後、古細菌と真正細菌の中には、AsnRS と GlnRS を持っていないものがあることが明らかになり^(1,2)、Yale 大学の Dieter Söll のグループによって、ミスチャージ中間体を経由する二段階反応過程が存在すること、Adt として GatCAB (GatC, GatA, GatB の複合体)、と GatDE (GatD, GatE 複合体) という二種類の複合体が存在することが明らかにされた。GatDE は古細菌のみに存在し、Gln-tRNA^{Gln} の合成のみに関与するのに対し、GatCAB は真正細菌、古細菌に存在し、Gln-tRNA^{Gln} および Asn-tRNA^{Asn} 両方の合成に関与する⁽³⁾。我々のグループは、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* MU50 由来の真正細菌型 GatCAB の構造解析に成功し、グルタミナーゼ部位、キナーゼ部位および tRNA 結合部位を特定し、30 Å 離れた 2 つの活性部位 (グルタミナーゼ部位とキナーゼ部位) の間に分子内部のアンモニアチャネルが存在していることを *Science* 誌に発表した⁽⁴⁾。我々はさらに GatCAB の結晶改良に成功し、高分解能での構造を得ることによって、GatB の tRNA 認識部位および特異性を決定する残基を明らかにした。一方、Marc Bailly らは、*T.thermophilus* では、Asn-tRNA^{Asn} の合成過程において、AspRS・GatCAB・tRNA^{Asn} が三者複合体 (トランスアミドソーム) を形成することを明らかにした⁽⁵⁾。しかし、その構造学的研究は行われていない。さらにバクテリアの Gln-tRNA^{Gln} の合成において、トランスアミドソームが存在するかどうか今後の課題として残された。

[参考文献]

- (1) Wilcox M, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 61, 229-362, 1968.
- (2) Sturauch MA, et al., *J. Bacteriol.*, 170, 916-920, 1988.
- (3) Tumbula DL, et al., *Nature*, 407, 106-110, 2000.
- (4) Nakamura A, Yao M, et al, *Science*, 312, 1954-1958, 2006.
- (5) Bailly M, et al, *Mol. Cell*, 28, 228-239, 2007.

2. 研究の目的

我々は、ミスチャージされた Asp-tRNA^{Asn} や Glu-tRNA^{Gln} が細胞中には存在しないことから、Asp-tRNA^{Asn} や Gln-tRNA^{Gln} の合成経路にもトランスアミドソームが存在すると考えている。本研究課題では、これを証明するために、まず、*S.aureus* 由来 Gln-tRNA^{Gln}

トランスアミドソーム GluRS-GatCAB-tRNA^{Gln}, あるいは *Paeruginosa* 由来 Asn-tRNA^{Asn} トランスアミドソーム AspRS-GatCAB-tRNA^{Asn} 複合体を高純度で精製し、結晶化する。そして、得られたトランスアミドソーム複合体の結晶構造解析を実施する。さらに、第2段階反応を行う GatCAB に変異を導入した上で、GluRS, あるいは AspRS が行う第1段階反応に必要な ATP, Glu/Asp を加え、トランスアミドソームの反応中間体を作製し、結晶構造解析を行う。最後に、反応の開始・中間体および単独の構造を比較することにより、2段階反応の協調メカニズムを解明する。

本研究は、トランスアミドソーム複合体を介して行われるアミノアシル tRNA の合成を X 線結晶構造解析法により調べた最初の研究となる。プロテオーム解析が進み、多くの蛋白質が相互に関連して機能していることが明らかにされてきている現在、RNA を介して形成されるトランスアミドソームの構造解析は、プロテオームに RNA が密接に関与する事例として、今後の構造生物学を先駆けする極めて重要な研究である。

2 段階反応を経る Asn-tRNA^{Asn} と Gln-tRNA^{Gln} 合成は、遺伝暗号と aaRS の進化の過程を今に残す「化石」と考えられている。Gln-tRNA^{Gln} トランスアミドソームの結晶構造解析を行うことで、この2段階反応において、GatCAB と GluRS がどのように協調して、tRNA^{Gln} のアミド化を行うのか、その協調機構が明らかにされる。また、これまでは GatCAB, GluRS, tRNA の分子進化は個々に考察されていたのに対し、トランスアミドソームの相互作用に注目することで、GatCAB, GluRS, tRNA の共進化関係を解明することが出来ると考えられる。生命初期において、遺伝暗号はどのように誕生し、正確性を維持したままどのように進化してきたのか？その謎を解明する上で、本構造解析は、全く新規で非常に重要な知見を与えると期待される。

3. 研究の方法

(1) *S.aureus* 由来 GatCAB, GluRS, tRNA^{Gln}; *Paeruginosa* 由来 GatCAB, AspRS, tRNA^{Asn} の調製

Paeruginosa 由来 GatCAB, AspRS, *S.aureus* 由来 GatCAB は、大腸菌発現系を用いて大量発現させる。一方、*S.aureus* 由来 GluRS は大腸菌の tRNA^{Gln} をミスチャージする機能を持ち、校正反応を行う GatCAB を持たない大腸菌には毒性を示す。そのため、大腸菌を用いた大量発現を利用することはできないので、*S.aureus* 由来 GluRS の発現は GatCAB を持つ *Rhodococcus erithroporis* を利用する。

R. erithroporis を用いた *S.aureus* 由来 GluRS 発現系の構築は、当研究室と共同研究している産総研の田村具博氏によって提供されたベクターとホストを利用して既に完了した。さらに、精製法も確立し、高速クロマトグラフィーシステムを用いて *S.aureus* 由来 GluRS の大量調製を行う。

tRNA^{Asn} と tRNA^{Gln} は T7 RNA Polymerase を用いた *in vitro* transcription により、大量調製の方法を確立している。ラージスケール (100ml) で *in vitro* transcription し、Urea-PAGE ゲルからの切り出し後、RNA 専用高速クロマトグラフィーシステムを用いて陰イオン交換樹脂で精製する。

(2) 修飾された tRNA^{Gln}(mod-tRNA^{Gln}) の調製

真正細菌由来 GluRS の活性には tRNA^{Gln} の修飾(mnm⁵s²U34)が重要であることが知られている。tRNA 修飾がトランスアミドソームの形成にも重要である可能性があるため、修飾された tRNA^{Gln}(mod-tRNA^{Gln}) の調製も行う。この調製は、病原菌である *S.aureus* からの直接精製が困難である。そこで我々は、バクテリア間で tRNA^{Gln} の修飾部位、tRNA 修飾酵素は高い相同性を示すので、異種間の tRNA 修飾も問題ないと考え、mod-tRNA^{Gln} の大量調製に向けて大腸菌発現系を構築した。mod-tRNA^{Gln} 調製後、質量分析装置を用いて修飾の確認を行う。大量発現させた mod-tRNA^{Gln} の精製は、既に確立された固相化 DNA プローブ法を用いる。その際、*S.aureus* 由来 tRNA^{Gln} に相補的なビオチン化 DNA プローブを固定化したストレプトアビジンカラムを用い、RNA 専用高速クロマトグラフィーシステムにより迅速に精製する。また、固相化 DNA プローブ法では結晶化に十分量 (~10mg) の mod-tRNA^{Gln} が得られない場合、*S.aureus* 由来 tRNA^{Gln} に高い結合活性を示す *S.aureus* 由来 GatCAB 変異体を利用し、GatCAB 変異体に付加している His-tag による Ni-アフィニティークロマトグラフィーで mod-tRNA^{Gln} を共精製する。GatCAB 変異体を用いた共精製は、大腸菌の培養量を増やすことでより大量に、Ni-アフィニティークロマトグラフィーを利用することでより簡便に mod-tRNA^{Gln} の調製を行うことができると期待される。共精製に利用する *S.aureus* 由来 GatCAB 変異体は既に発現系、精製法ともに確立済みである。

(3) ミスチャージされた Glu-tRNA^{Gln} の調製

トランスアミドソームの反応中間体を得るためには、ミスチャージされた Glu-tRNA^{Gln} が必要であり、本研究では、第2段階反応を行う GatCAB に変異を導入した上で、GluRS が行う第1段階反応に必要な ATP, Glu を加え、トランスアミドソームの反応中間体の作

成を試みる。しかし、相互作用実験の状況によって、Glu-tRNA^{Gln}を調製する必要がある場合には、(1)で調製したGluRSとtRNA^{Gln}を用い大量調製し、既に確立した方法によりRNA専用高速クロマトグラフィーシステムを用いて精製する。

(4)トランスアミドソームの成分間の相互作用実験

トランスアミドソームの形成を確認するためには、まず、各成分間の相互作用を調べる。既に、GatCABとtRNAの相互作用はゲルシフトアッセイとゲル濾過分析により確認された。GatCABとGluRS、GatCABとAspRS、GluRSとtRNA^{Gln}、AspRSとtRNA^{Asn}およびGluRSとmod-tRNA^{Gln}の相互作用解析は、GatCABと同様に、ゲルシフトアッセイおよびゲルろ過分析により行う。その後、三者間の相互作用解析を行い、トランスアミドソーム形成条件を探索する。トランスアミドソームの形成が確認されたら、等温滴定カロリーメトリー (ITC) を用いて、化学量論と親和力の測定を行う。さらに動的光散乱光度計 (DLS) を用いて、粒子のサイズを測定することによって複合体の確認を行い、トランスアミドソームの形成条件を最適化し、安定なトランスアミドソームを調製する。

(5)トランスアミドソーム複合体の調製および結晶化と結晶化条件の最適化

ゲルシフトアッセイ、ゲルろ過分析、ITCおよびDLSにより決定した複合体形成条件をもとにトランスアミドソームを大量調製し、結晶化スクリーニングを行う。結晶化の初期スクリーニングは市販のキットを用いた約600条件で行う。その際、自動蛋白質結晶化システムを用いて少量のサンプル (100nl/condition) で大量の条件を短時間に自動的にスクリーニングする。何らかの初期結晶が得られた場合には、結晶化スケールをアップして、pH、沈殿剤濃度と複合体の濃度の3次元で結晶化条件の最適条件を探索する。場合によってはサンプル調製法の再検討を行い、回折実験が可能な良質な単結晶を作製する。回折実験に適用できる結晶が得られたら、シンクロトロン放射光施設にてデータ収集し、構造解析へと進める。

(6)トランスアミドソームの X 線結晶構造解析

トランスアミドソームの良質な単結晶が得られた場合には、シンクロトロン放射光施設にてクライオ条件下で X 線回折実験を行う。その際の予備実験は、本研究室の X 線回折装置を用いて行い、回折データの収集は放射光施設を利用する。構造因子の初期位相は、現在得られている GatCAB, GluRS, AspRS,

大腸菌由来 tRNA^{Gln}を用いて分子置換法より決定する。分子置換法の計算が難航する場合には、GatCABのSe置換体を作成し、Se-SAD法、あるいはtRNAのリン酸原子を利用したP-SAD法を用いて位相の計算を行う。構造の精密化は本研究代表者らが開発した自動精密化プログラムLAFIREを用いて行う。

(7)トランスアミドソーム中間体のX線結晶構造解析

2段階反応の協調機構を解明するためには、第1と第2段階反応の間に存在するトランスアミドソーム中間体の構造解析を行う。まず、中間体を得るためには、第2段階の反応が進まないようにGatBのキナーゼ部位に変異を導入して、トランスアミドソームの変異体を作成する。そして、第1段階の反応に必要なATP、Glu/Aspとの共結晶化法あるいはゾーキング法により、第1段階の反応後の中間体結晶を作成する。良質な単結晶が得られた場合には、放射光施設で回折データを収集し、分子置換法あるいはSe-SAD/P-SADにより、構造解析を行う。構造の精密化はLAFIREを使う。

(8)トランスアミドソームの構造の解釈と協調機構の検証

2段階の反応をスナップショットしたトランスアミドソームの構造および各成分の単体構造の比較により、2段階反応の機構を明らかにし、さらに協調メカニズムを推定できる。推定した協調メカニズムを証明するために、得られた構造に基づいて、メカニズムに対応する各成分の活性残基を置換した変異体を作成し、14C-Glu/14C-Aspと14C-Gln/14C-Asnを利用し活性測定を行い、仮説を検証する。さらに、同じくtRNA^{Gln}を認識するGlnRS、あるいはtRNA^{Asn}を認識するAsnRSとGatCABのtRNA認識機構を比較することで、GatCABとGlnRSあるいはAsnRS間の、分子進化関係の有無についての情報も得ることが可能である。この際、膨大な量の変異体の発現系構築、精製を行うために、quick-change法および微量自動蛋白質精製装置 (マグネットビーズシステム) を利用し発現系の構築を迅速に行う。また、クロマト装置を利用した蛋白質精製の自動化システムを利用することにより、短期間で多数の変異体の大量調製が可能となる。

4. 研究成果

2009年度は、まず、tRNA^{Gln}、ND-GluRSおよびGatCABからなるGln-tRNA^{Gln}トランスアミドソームを同定するために、各因子の調製を行った。ND-GluRSとGatCABに関しては大腸菌発現系を用いて大量調製し、その

後、クロマトグラフィーにより高純度に精製した。tRNA^{Gln}の調製は一般的に行われる *in vitro* transcription ではなく、大腸菌発現系を用いて大量調製した。次に、高純度に精製した tRNA^{Gln}、ND-GluRS および GatCAB を用いて複合体形成実験を行った。複合体の確認にはゲル濾過分析およびゲルシフトアッセイを用いた。その結果、ND-GluRS と GatCAB の 2 者では複合体を形成しなかったが、さらに tRNA^{Gln} を加えることにより 3 者複合体の形成が確認された。この結果から、Gln-tRNA^{Gln} の間接合成経路におけるトランスアミドソームの形成を明らかにすることに成功した。

2010 年度は、前年度に引き続き、トランスアミドソームの結晶化を進めるとともに、古細菌由来トランスアミドソームにも注目して研究を遂行した。その結果、古細菌由来トランスアミドソームの大量調製ができ、初期結晶を得ることができた。また、古細菌由来 GatCAB の立体構造を明らかにすることにも成功し、真正細菌由来 GatCAB との構造比較から、古細菌由来 GatCAB に特有の反応機構を解明することができた。この結果は、第 12 回日本 RNA 学会年会および第 60 回日本結晶学会年会にて成果発表を行った。

2010 年度に tRNA^{Gln}、ND-GluRS、GatCAB からなる Gln-tRNA^{Gln} の間接合成トランスアミドソームと、tRNA^{Asn}、ND-AspRS、GatCAB からなる Asn-tRNA^{Asn} の間接合成トランスアミドソームの構造が発表されたが、いずれも、アーティファクトの可能性を排除できないため、アミノアシル化（ミスチャージ）とトランスアミドソーム反応の間で起こる tRNA の動きが明らかにされておらず、多分子協調機構の謎は残っている。

我々は、2011 年度以後、緑膿菌由来の Asn-tRNA^{Asn} トランスアミドソームに絞って研究を進めた。まず、各構成因子である tRNA^{Asn}、ND-AspRS、GatCAB の大量調製を行い、トランスアミドソームの再構成を行った。ゲルシフトアッセイによりトランスアミドソームの再構成を確認することができた。それから、tRNA^{Asn}、ND-AspRS、GatCAB 間の結合実験を行い、トランスアミドソームを構成する際に GatCAB、AspRS、と tRNA^{Asn} の割合が 2:2:2 であることを明らかにした。得られたトランスアミドソーム形成条件に基づき、結晶化を試みた（図 1）。その結果、3.7 Å 分解能の構造解析に成功した（図 2）。得られたトランスアミドソーム構造は、生化学実験と一致して、tRNA(Asn) : ND-AspRS : GatCAB = 2 : 2 : 2 の割合で構成されていた。その構造では、tRNA^{Asn} のアクセプターステムが、ND-AspRS の活性部位に位置していたことから、得られた構造は、tRNA^{Asn} がアミノアシル化される前の状態と言え、この後、アクセプターステムがアミノアシル化（ミスチャー

ジ）され、GatCAB の活性部位に向かってフリップすることで、トランスアミドソーム反応が起こると考えられる。今後は、他の 2 種類の結晶構造と比較しながら、多分子協調機構を提案し、さらに、変異体を用いた生化学実験により検証を行い、詳細な反応機構を明らかにしていく。

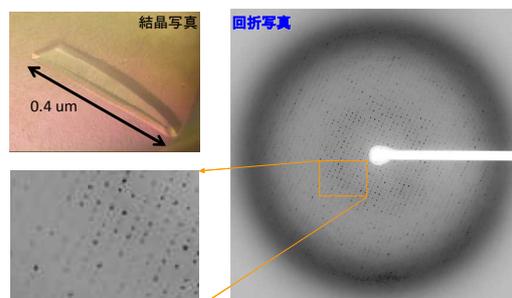


図 1. Asn-tRNA^{Asn} トランスアミドソームの結晶と回折写真

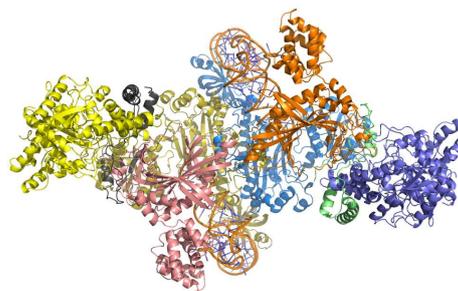


図 2. Asn-tRNA^{Asn} トランスアミドソームの構造

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 8 件）

- ① Englert M, Xia S, Okada C, Nakamura A, Tanavde V, Yao M, Eom S-H, Konigsberg W-H, Söll D, Wang J, Structural and mechanistic insights into guanylation of RNA-splicing ligase RtcB joining RNA between 3'-terminal phosphate and 5'-OH, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 15235-15240 (2012), 査読有, DOI: 10.1073/pnas.1213795109
- ② Gai Z, Kitagawa Y, Tanaka Y, Shimizu N, Komoda K, Tanaka I, Yao M, The binding mechanism of eIF2β with its partner proteins, eIF5 and eIF2Bε, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 423, 515-519

- (2012), 査読有, DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.05.155
- ③ Hu S-Q, Gao Y-G, Tajima K, Sunagawa N, Zhou Y, Kawano S, Fujiwara T, Yoda T, Shimura D, Satoh Y, Munekata M, Tanaka I, Yao M, Structure of bacterial cellulose synthase subunit D octamer with four inner passageways, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 17957-17961 (2010), 査読有, DOI: 10.1073/pnas.1000601107/-DCSupplemental
- ④ Nakamura A, Sheppard K, Yamane J, Yao M, Söll D, Tanaka I, Two distinct regions in *Staphylococcus aureus* GatCAB guarantee accurate tRNA recognition, *Nucl. Acid Res.* 38, 672-682 (2010), 査読有, DOI: 10.1093/nar/gkp955
- ⑤ Ito H, Watanabe N, Yao M, Shirakihara Y, Tanaka I, Crystal Structures of the Multidrug Binding Repressor *Corynebacterium glutamicum* CgmR in Complex with Inducers and with an Operator, *J. Mol. Biol.* 403, 174-184 (2010), 査読有, DOI: 10.1016/j.jmb.2010.07.042
- ⑥ Sokabe M, Ose T, Nakamura A, Tokunaga K, Nureki O, Yao M, Tanaka I, The structure of alanyl-tRNA synthetase with editing domain, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 11028-11033 (2009), 査読有, DOI: 10.1073/pnas.0904645106
- ⑦ Chimnarong S, Suzuki T, Manita T, Ikeuchi Y, Yao M, Suzuki T, Tanaka I, RNA helicase module in an acetyltransferase that modifies a specific tRNA anticodon, *The EMBO J.* 28, 1362-1373 (2009), 査読有, DOI: 10.1038/emboj.2009.69
- ⑧ Chimnarong S, Forouhar F, Sakai J, Yao M, Tron C-M, Atta M, Fontecave M, Hunt J-F, Tanaka I, Snapshots of Dynamics in Synthesizing N^6 -Isopentenyladenosine at the tRNA Anticodon, *Biochemistry* 48, 5057-5065 (2009), 査読有, DOI: 10.1021/bi900337d

[学会発表] (計4件)

- ① 蓋作啓, 北川侑未枝, 姚閔, 尾瀬農之, 田中良和, 田中勲: The Recognition Mechanism of eIF2 β for its partner proteins eIF5 and eIF2B ϵ , 第49回日本生物物理学会年会, 2011年9月16-18日, 兵庫県立大学姫路書写キャンパス (姫路市)
- ② 周倩, 中村彰良, 朝野希美, 姚閔, 田中勲: 古細菌型 GatCAB と真正細菌型 GatCAB の比較, 第60回日本結晶学会年会, 2010年12月3-5日, 大阪大学コンベンションセンター (吹田市)

- ③ 中村彰良, 周倩, 朝野希美, 姚閔, 田中勲: 真正細菌型 GatCAB と古細菌型 GatCAB の構造比較, 第12回日本RNA学会年会, 2010年7月27-29日, 一橋記念講堂 (東京都千代田区)
- ④ Yao M: Structural basis for translation factor recruitment to the eukaryotic / archaeal ribosomes, Taiwan-Japan Joint Seminar on Crystallography and IPR Seminar, December 7-9 (2009), Osaka University (Suita, Japan)

[その他]

ホームページ

<http://altair.sci.hokudai.ac.jp/g6/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

姚 閔 (YAO MIN)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・教授

研究者番号: 40311518

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

田中 勲 (TANAKA ISAO)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・特任教授

研究者番号: 70093052