

# 機能解析第2研究チーム

## Functomics Biology II Research Team

チームリーダー 海老原 章郎

EBIHARA, Akio

酸素分子は、ヒトを含めた好気性生物の生命維持に最も重要である。スーパーオキシドや過酸化水素などの、好気代謝の副産物として酸素分子から生成する活性酸素種は、様々な生体分子に傷害を与える。遺伝情報が書き込まれているゲノム DNA とその原材料であるヌクレオチドも、活性酸素種による酸化ストレスを絶えず受けている。そのため、生物は、酸化ストレスに対する防御システムと、酸化傷害を受けた DNA やヌクレオチドを分解・修復するシステムを進化の過程で獲得してきた。そこで、一連の生命現象に関係する3つのテーマ (1)酸化ストレス防御システム、(2)ヌクレオチド代謝システム、(3)酸化傷害 DNA 修復システムに関して、立体構造情報を最大限活用しつつ、ゲノム全体を対象とする機能研究を行っている。

### 1. 酸化ストレス防御システム (海老原、飯野、満足)

酸化ストレス防御システムは、活性酸素種を分解する複数の酵素で構成された細胞内システムである。今年度の立体構造解析により、*T. thermophilus* HB8 に存在する約15種類の候補タンパク質分子のうち、8種類の構造が明らかになった (スーパーオキシドジスムターゼ、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ、チオレドキシニン類2種類、ペルオキシレドキシニン様タンパク質 (TTHA0593)、ピリドキシン合成酵素2種類)。他の7種類については、ホモログで決定された立体構造を利用することで、活性部位の相同性から、システムを構成する全タンパク質に対する機能発現機構が解析可能な状況が整った。

一重項酸素をクエンチングにより無毒化するピリドキシンは、2種類の酵素 (TTHA0704、TTHA0707) により生合成される。両酵素は、植物、カビ、古細菌、バクテリアなど極めて多くの生物種で保存されている。これらの単体の立体構造を決定した。グルタミンアミドトランスフェラーゼ (TTHA0707、PdxT) は、3層の  $\alpha/\beta$  サンドイッチ構造を有し、触媒三組み残基 (Cys-His-Glu) が分子中央の溝に存在する。ピリドキシン合成酵素 (TTHA0704、PdxS) は、8回繰り返し  $\alpha/\beta$  バレルを基本構造とするサブユニットが12量体を形成し、直径約100の筒状構造を作る。筒状構造の外側に、PdxS に対し1:1の比率で PdxT が結合して複合体を形成し、PdxT により生成された遊離アンモニアが、PdxS の  $\alpha/\beta$  バレル構造の内部に形成された分子トンネルによって、筒状構造の内側に位置する PdxS の活性部位へと受け渡され、ピリドキシン合成が行なわれると考えられる。

過酸化水素を分解する酵素として、カタラーゼに加えて、ペルオキシレドキシニン・ファミリーに属す Bacterioferritin comigratory protein (BCP) がある。BCP に対する構造機能相関の一般性を理解するため、*T. thermophilus* HB8 に存在する2種類の BCP 様タンパク質 (TTHA1300、TTHA0593) のうち、TTHA1300 に対するホモログの立体構造解析を行った。両者とも、典型的なチオレドキシニン様フォールドを有する。ホモログ間で完全に保存された N 末端の Cys 残基が活性部位である点は共通だが、*Sulfolobus tokodaii* 由来の酵素 (ST1785) は単

量体構造を取るのに対し、*Aquifex aeolicus* 由来の酵素 (aq\_488) は4量体を形成し、ホモログ間で大きな四次構造の変化が存在することが分かった。

### 2. ヌクレオチド代謝システム (金川、河合<sup>\*1</sup>、三瓶<sup>\*1</sup>、奥田<sup>\*2</sup>、角田<sup>\*2</sup>、田村<sup>\*2</sup>、中川<sup>\*1</sup>、増井<sup>\*1</sup>)

プリン、ピリミジンヌクレオチドは、ほとんど全ての生物にとって必要不可欠な物質である。これらのヌクレオチドは、遺伝情報を担う DNA や RNA の前駆体であるばかりでなく、生体反応のエネルギー源や補酵素、細胞内シグナル伝達物質の原材料ともなり、ヌクレオチド分子プールを適正に保つことは生命維持に不可欠である。

Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) は、プリンヌクレオチド合成系のサルベージ系で働く酵素で、塩基と5-ホスホリボシル1 $\alpha$ -ニリン酸からモノヌクレオチドとニリン酸を合成する酵素である。本酵素は、プリンヌクレオチドの中でもヒポキサンチン、グアニンを特異的に認識して、ホスホリボシル基を塩基の9位のNに付加する。この反応は可逆反応であり、HGPRT は細胞内の inosine monophosphate (IMP) と guanine monophosphate (GMP) の濃度調節に関与すると考えられる。今年度、本酵素に対するIMP複合体とGMP複合体の立体構造を取得した。その結果、それらの複合体では、基質の塩基結合部位の近傍にある Tyr155 が塩基方向に覆い被さっているのに対して、単体構造では Tyr155 はフリップアウトしていた。Tyr155 の OH は基質プリン環の2位の近くに位置し、xanthine monophosphate (XMP) の2位のOと反発することが予想され、キサンチンを基質とする活性が低いことが示唆された。

GMP synthase (GuaA) は、プリンヌクレオチド新生合成系のIMPからGMPを生成する2段階反応の後者を触媒する酵素である。その反応は、ATPを利用してグルタミンからアンモニアを脱離させる反応と、生じたアンモニアをXMPの2位のOに置換してGMPを生成する反応からなる。本酵素に対するXMP複合体とATP複合体の構造を取得した。GuaAは、アミノトランスフェラーゼドメイン、ATPピロフォスファターゼドメイン、2量体化ドメインの3ドメインから構成されていた。単体構造とXMP複合体の比較から、基質結合に伴うループおよびドメインの動きや

反応中間体の形成が示唆された。

DNA の原料である デオキシヌクレオシド 5'-三リン酸(dNTP)の濃度バランスが崩れると、DNA polymerase による誤った DNA の取り込みが増す。このために dNTP の濃度バランスを保つ酵素が存在すると考えられている。その候補として我々は dNTPase に着目した。本酵素は、4 種類の dNTP をヌクレオシドと三リン酸に分解する活性を有するが、dNTP が複数種類共存する時にのみ活性を発現する。これまでの酵素化学的解析から、本酵素には、1 個の触媒部位と 2 個のヌクレオチド認識部位が存在すると推定された。そのメカニズムを解明するため、立体構造解析を行った。その結果、本酵素は 6 量体を形成し、各サブユニットの分子内部に進化的に保存された活性部位を持つことが分かった。得られた立体構造を用いて、dATP と Mg との複合体構造をモデリングしたところ、活性部位周辺のヌクレオチドの塩基部分を認識する領域はディスオーダーしていると分かり、本酵素の有する広い基質特異性を説明できた。本酵素の存在は、ヌクレオチド代謝のシステムレベルでの解析に、生合成系とともに分解系も考慮する必要があることを示している。

### 3. 酸化傷害 DNA 修復システム (中川<sup>\*1</sup>、増井<sup>\*1</sup>)

好気呼吸などによって生じる活性酸素種は、DNA に様々な酸化傷害を引き起こす。MutM は、最も主要な酸化傷害のひとつである 8-オキシグアニン塩基を認識し、除去する。これまでに *T. thermophilus* HB8 MutM (TTHA1806)-DNA 複合体の立体構造を明らかにしてきた。この構造に基づいて複数の変異体 MutM を作製し、詳細な反応機構の解析を行った。その結果、Arg253 が初期の DNA 結合に、Lys52 がヌクレアーゼ活性に必要であることが分かった。さらに、認識したグアニン残基を DNA二本鎖の外側へフリップアウトさせる反応において、Lys52、Arg99、Phe101 が重要な働きをすることも明らかにした。これらの結果から、MutM による複雑な傷害塩基除去反応を原子レベルで説明することに成功した。

### 4 機能未知タンパク質の機能発見研究 (海老原、飯野、満足、金川、河合<sup>\*1</sup>、三瓶<sup>\*1</sup>、中川<sup>\*1</sup>、増井<sup>\*1</sup>)

*T. thermophilus* HB8 が有する全タンパク質約 2,200 個のうち、約 500 個は機能未知タンパク質である。その中で、酸化ストレス応答に関与するものを推定し、立体構造を利用した機能解析を進めてきた。

Universal stress protein (Usp)は、酸化ストレスや栄養飢餓等に対する耐性を与えるタンパク質で、真核生物、バクテリア、古細菌の幅広い生物種で保存されている。しかし、ストレス耐性を与える Usp の分子機能は未知である。これまでに *T. thermophilus* HB8 に存在する 5 種類の Usp に対し立体構造解析を行い、Usp の一つである TTHA0895 がホモ 2 量体構造を取ることが明らかにした。今年度、新たに ATP 結合構造を取得でき、ATP 結合に伴う二次構造の変化を見出した。さらに、Usp ドメインが並列に 2 個つながっている別の Usp、TTHA0350 の立体構造を決定した。

Molecular oxygen, the most important molecule of aerobic organisms including *Homo sapiens*, can generate toxic reactive oxygen species. The oxidative stress from these oxygen species has harmful effects on DNA and nucleotides. Therefore, protection systems against oxidative stress as well as degradation and repair systems for damaged DNA and nucleotides are essential. Through structural and functional analyses, this research team aims to understand the cellular systems responsible for alleviating effects of oxidative stress in *T. thermophilus* HB8.

### 1. Protection systems against oxidative stress.

In *T. thermophilus* HB8, the protection systems against oxidative stress consist of 15 proteins. As of the end of this year, we have determined the structures of eight proteins. By the use of structures of homologs, we can analyze the functions of all of the proteins in the systems, on the basis of their three-dimensional structures.

*T. thermophilus* HB8 encodes two enzymes (TTHA0704 and TTHA0707) for the biosynthesis of pyridoxine, which serves as an important cofactor of vitamin B6 as well as a quencher of singlet oxygen. We determined the crystal structures of both enzymes. The structure of glutamate amidotransferase (TTHA0707, PdxT) is an  $\alpha/\beta$  three-layer sandwich. Its catalytic triad (Cys-His-Gln) is located in a cavity of the molecule. The structure of the pyridoxine biosynthesis enzyme (TTHA0704, PdxS) adopts an  $\alpha/\beta_8$  fold and forms a dodecamer assembled like a cylinder. PdxT is thought to bind to PdxS with a 1:1 stoichiometry.

Bacterioferritin comigratory protein (BCP) is a peroxiredoxin family member that degrades hydrogen peroxide and alkyl hydrogen peroxide. To examine the general relationship between the structure and the function of BCP, we determined the crystal structures of BCP homologs (ST1785 and aq 488). Both structures in common adopt a typical thioredoxin-fold, but they exhibit large differences in their quaternary structures.

### 2. Nucleotide metabolic systems.

Purine and pyrimidine nucleotides are essential for almost all the organisms. These nucleotides function not only as the precursors of DNA and RNA, but also as the materials for energy sources, cofactors, and signaling molecules. Proper maintenance of the nucleotide pool properly is indispensable for organisms.

Hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase (HGPRT) functions in the salvage pathway of purine nucleotide biosynthesis. HGPRT transfers the phosphoribosyl group to the N9 atoms of hypoxanthine and guanine to produce inosine monophosphate (IMP) and guanine monophosphate (GMP), respectively. This enzyme is involved in regulating the cellular concentration of both nucleotides. We determined the structures of this enzyme complexed with IMP and GMP, which reveals that Tyr155 is important for substrate-binding.

GMP synthase (GuaA) functions in the *de novo* pathway of purine nucleotide biosynthesis. This enzyme converts xanthine monophosphate (XMP) to GMP by the replacement of its 2-keto group with the glutamine's nitrogen, in a reaction driven by ATP hydrolysis. We determined the structures of this enzyme in complex with XMP and ATP.

To maintain the high-fidelity of DNA replication, the levels of DNA precursors, deoxyribonucleoside triphosphates

<sup>\*1</sup> 客員、<sup>\*2</sup> 研修生

(dNTPs), must be controlled properly within the cell. The maintenance is considered to be regulated by nucleotide biosynthesis, as described above. However, we identified a new metal-dependent enzyme (dNTPase) that is possibly involved in the maintenance by degrading dNTPs. This enzyme has no degrading activity for single dNTPs, but its activity is induced by the presence of mixed dNTPs containing dATP and dTTP. We solved the structure of this enzyme, and created a model of the dNTPase in complex with Mg<sup>2+</sup> and dATP. The loop that putatively recognizes the base moiety of dATP is flexible, which is consistent with the broad substrate specificity of this enzyme. The identification of this enzyme indicates that we also need to consider degradation systems in the systems-analysis of nucleotide metabolism.

### 3. Base excision repair systems.

Reactive oxygen species cause various forms of oxidative DNA damage. A base-excision repair enzyme, MutM, recognizes and removes 8-oxoguanine in DNA. We determined the crystal structure of *T. thermophilus* MutM (TTHA1806) complexed with substrate DNA. On the basis of the knowledge obtained from the structural analyses, we performed detailed functional analyses by constructing various mutant MutM proteins. These analyses revealed that Arg253 and Lys52 are required for the initial DNA-binding and the nuclease activity, respectively. Our data also showed that Lys52, Arg99 and Phe101 play important roles in flipping the recognized 8-oxoguanine residue out of double-stranded DNA.

### 4. 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. Out of them, we have analyzed proteins possibly involved in the cellular response against oxidative stress.

The universal stress protein (Usp) superfamily is a conserved domain consisting of 130-160 amino acids, and is found in bacteria, archaea, and eukaryotes. The possible physiological function of Usp is to protect the cell from various stresses. However, its biochemical mechanism remains unknown. We solved the crystal structures of the single domain of Usp in complex with ATP and the two tandem domains of Usp. Further biochemical studies to analyze the stress resistance are in progress.

## Staff

### Head

Dr. Akio EBIHARA

### Members

Dr. Mayumi KANAGAWA

Mr. Hitoshi IINO

Ms. Miho MANZOKU

### in collaboration with

Dr. Takehiko SHIBATA (Cellular & Molecular Biology Lab.)

Dr. Tsutomu MIKAWA (Biometal Science Lab.)

## Visiting Members

Dr. Ryoji MASUI (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)

Dr. Gen-ichi SANPEI (Fac. Electro-Commun., Univ. Electro-Commun.)

Dr. Gota KAWAI (Fac. Technol., Chiba Inst. Technol.)

Dr. Hiroki KONDO (Fac. Comput. Sci. Syst. Eng., Kyushu Inst. Technol.)

Dr. Noriko NAKAGAWA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)

Dr. Shinichi YOKOBORI (Pharma. Technol., Tokyo Univ. Pharma. Life Sci.)

Dr. Seiki BABA (Grad. Sch. Sci., Osaka Univ.)

Dr. Haruhiko SAKURABA (Fac. Eng., Univ. Tokushima)

Dr. Toshihisa OHSHIMA (Grad. Sch. Bioresource Bioenviron. Sci., Kyusyu Univ.)

Dr. Kiyoshi OKADA (Fac. Electro-Commun., Univ. Electro-Commun.)

## Trainees

Mr. Kenji OKUDA (Fac. Electro-Commun., Univ. Electro-Commun.)

Mr. Satoru TUNODA (Fac. Electro-Commun., Univ. Electro-Commun.)

Ms. Satoko TAMURA (Fac. Technol., Chiba Inst. Technol.)

## 誌 上 発 表 Publications

### [ 雑誌 ]

( 原著論文 ) \*印は査読制度がある論文誌

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). \*

Okada K., Matsuda T., Sakamoto T., Muto Y., Yokoyama S., Kanai A., and Kawai G. : "<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N resonance assignments of the 2'-5' RNA ligase-like protein from *Pyrococcus furiosus*", *J. Biomol. NMR* 36, No. 5, p.16 (2006). \*

Okada K., Takahashi M., Sakamoto T., Kawai G., Nakamura K., and Kanai A. : "Solution structure of a GAAG tetraloop in helix 6 of SRP RNA from *Pyrococcus furiosus*", *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 25, No. 4-6, pp.383--395 (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). \*

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). \*

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). \*

Kondou 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). \*

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).

# 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 *O*<sup>6</sup>-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).

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 Internaional Conference on Structural Genomics (ICSG2006), Beijing, China, 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).

## (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).

木田 宗志, 飯野 均, 中川 紀子, 久野 玉雄, 藤橋 雅宏, 喜田 昭子, 三木 邦夫: "フェニル酢酸の異化に関わるPaaタンパク質群の結晶学的研究", 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).

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).

永田 宏次, 大塚 淳, 飯野 均, 海老原 章郎, 田之倉 優: "独特の4ヘリックスバンドル構造を有する推定金属依存性加水分解酵素TT2238の結晶構造解析", 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 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 麗一, 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).

- 馬場 清喜,金川 真由美,中川 紀子,海老原 章郎,河合 剛太,三瓶 厳一: "Geobacillus kaustophilus 由来 PurDタンパク質の結晶構造解析", 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).
- 金川 真由美,馬場 清喜,中川 紀子,海老原 章郎,河合 剛太,三瓶 厳一: "Aquifex aeolicus VF5由来PurKタンパク質の結晶構造解析", 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).
- 金 成勲,久野 玉雄,竹田 一旗,岩崎 わかな,海老原 章郎,三木 邦夫: "高度好熱菌由来4-ヒドロキシフェニル酢酸3-モノオキシゲナーゼのオキシゲナーゼ・コンポーネント(HpaB)の構造解析", 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).
- 角田 悟,奥田 健司,馬場 清喜,金川 真由美,中川 紀子,河合 剛太,三瓶 厳一: "Thermus thermophilus HB8由来PurKタンパク質の結晶構造解析", 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).
- 木田 宗志,飯野 均,中川 紀子,久野 玉雄,藤橋 雅宏,喜田 昭子,三木 邦夫: "フェニル酢酸の好氣的代謝に関わる Paaタンパク質の結晶学的研究", 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 厳一,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 *O*<sup>6</sup>-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).
- 河合 剛太,田村 さと子,角田 悟,奥田 健司,岡田 潔,金川 真由美,馬場 清喜,中川 紀子,海老原 章郎,三瓶 厳一: "プリン・ピリミジンヌクレオチド生合成系の丸ごと解析", 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).
- 永田 宏次,大塚 淳,飯野 均,海老原 章郎,田之倉 優: "4ヘリックスバンドルタンパク質 TT2238 の2つの $\alpha$ ヘリックス ( $\alpha 2$  と  $\alpha 3$ ) 間の長いループのプロテアーゼ活性による除去", 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).
- 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).
- 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に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).
- 中井 忠志,中川 紀子,真岡 伸子,増井 良治,倉光 成紀,神谷 信夫: "高度好熱菌の多酵素系構成タンパク質およびそれらの複合体の結晶構造解析", 酵素・補酵素研究会, (酵素・補酵素研究会), 別府, 10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).