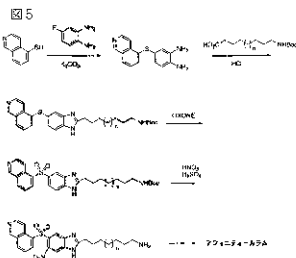


ソキノリンチオールに対してフルオロジアミノベンゼンを導入し（第1ステップ）、次いでスベラーとなるアミノカルボン酸をベンツイミダゾール環を形成させつつ導入する（第2ステップ）。アミノ基の保護基には、Boc基を用い、導入するメチレン鎖の数(n)は、4~10程度を考えている。

次いでチオール基をオゾンにて酸化レスルホンとし（第3ステップ）、混融によりニトロ基を導入すると同時に保護基(Boc)をはずす（第4ステップ）。えられる target 1 は、市販の活性カルボン酸型アフィゲル10と縮合させれば、所望のアフィニティゲルの作成が完成する。

本研究者は、リードや目的とする標的分子は今回とは異なるものの、過去に同様の手法によってアフィニティゲルを作成し、ベンゾジクタム特異的結合蛋白の探索や、フォスファジルイノシトール結合蛋白の探索・固定、植物ホルモンスイトカイニン結合蛋白の探索・固定に成功した実績を持っており、本手法によって神経細胞死抑制に関わる分子標的が特定できる可能性は高いと考えている。



## K. 結論

本年度は、当初の目的、すなわち神経細胞死抑制作用を有する PSA 阻害剤を見出すことは出来なかったが、そのことは PSA 阻害細胞

死抑制剤の分子標的の足り得ないことを意味する。

しかしながら、今回新たにリードとして当てはまるソキノリン系化合物が特定でき、その分子標的探索に向けての準備を終えることが出来た。

## K. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Komoda, M., Kakuta, H., Takahashi, H., Fujimoto, Y., Kadoya, S., Kato, F., Hashimoto, Y. Specific inhibitor of puromycin-sensitive aminopeptidase with a homophthalimide skeleton. Identification of the target molecule and a structure-activity relationship study. *Bioorg. Med. Chem.*, 9, 121-131 (2001)
- 2) Sodeoka, M., Sampo, R., Kojima, S., Baba, Y., Morisaki, N., Hashimoto, Y. Asymmetric synthesis of a 3-acylcytotoxic acid derivative, RK-682, and formation of its calcium salt during silica gel column chromatography. *Chem. Pharm. Bull.* 49, 206-212 (2001)
- 3) Takahashi, H., Hashimoto, Y. Formaldehyde-mediated modification of natural deoxyguanosine with amines: one-pot cyclization as a molecular model for genotoxicity. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 11, 729-731 (2001)
- 4) Morisaki, N., Hashimoto, Y., Furihata, K., Yazawa, K., Tamura, M., Mikami, Y. Glycosylative inactivation of chalcone and tylosin by clinically isolated *Accordia* steroids strain. *J. Antibiot.* 54, 157-165 (2001)
- 5) Ebisawa, M., Oha, K., Kawachi, E., Fukasawa, H., Hashimoto, Y., Kaguchi, H. Novel retinoid tropolone derivatives. Bioisosteric relationship of tropolone ring with benzoic acid moiety in

retinoid structure. Chem. Pharm. Bull. 49, 501-505 (2001)

6) Sou, S., Takahashi, H., Yamasaki, R., Kagechika, H., Endo, Y., Hashimoto, Y.  $\alpha$ -Glucosidase inhibitors with a 4,5,6,7-tetrachlorophthalimide skeleton pendanted with a cycloalkyl or dicarba-*cis*-dodecaborane group. Chem. Pharm. Bull. 49, 791-793 (2001)

7) Kita, T., Takahashi, H., Hashimoto, Y. Thymidine phosphorylase inhibitors with a homophthalimide skeleton. Biol. Pharm. Bull. 24, 860-862 (2001)

8) Kakuta, H., Koiso, Y., Takahashi, H., Nagasawa, K., Hashimoto, Y. Novel specific puronycin-sensitive aminopeptidase inhibitors: 3-(2,6-diethylphenyl)-2,4-(1*H*,3*H*)-quinazolinodione and *N*-(2,6-diethylphenyl)-2-amino-4*H*-5,1-benzoxazin-4-one. Heterocycles, 55, 1433-1438 (2001)

9) Sakamoto, H., Ashima, T., Sato, S., Hashimoto, Y., Yamori, T., Tsuruo, T. Selective activation of apoptosis program by *S*-*p*-bromobenzylglutathione cyclopentyl diester in glyoxalase 1-overexpressing human lung cancer cells. Clin. Cancer Res. 7, 2513-2518 (2001)

10) Nishikawa, A., Saito, S., Hashimoto, Y., Koga, K., Shirai, R. Synthesis of 1- $\alpha$ -phosphatidyl-D-*myo*-inositol 3,5-bisphosphate from D-glucose. Tetrahedron Lett. 42, 9195-9198 (2001)

11) Takahashi, H., Hashimoto, Y., Nagasawa, K. Novel formaldehyde-mediated dimerization reaction of *N*-alkyl-1-naphthylamine derivatives under mild/neutral conditions; application to synthesis of naphthylamine-derived macrocycles. Heterocycles, 55, 2305-2313 (2001)

12) Kakuta, H., Takahashi, H., Ota, S., Kita, T., Nagasawa, K., Hashimoto, Y. Enzyme inhibitors derived from thalidomide. Recent Res. Develop. Med. Chem. 1, 189-211 (2001)

## 2. 学会発表

1) 高橋裕保, 小磯邦子, 小林久芳, 橋本祐一: 芳香族アミンによる核炭素のホルムアルデヒド依存の修飾.

日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

2) 藤井晋也, 石岡利康, 小磯邦子, 橋本祐一, 遠藤泰之:

カルボラン含有核内レセプターリガンドの設計と合成. アンドロゲン・アンタゴニストへの応用.

日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

3) 馬場良泰, 柳沢武史, 袖岡幹子, 真弓聡, 橋本祐一:

蛋白質の高次構造を認識する機能的分子の開発研究—PKC 結合分子の設計と評価—. 日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

4) 加来田博貴, 門矢静夫, 高橋裕保, 森崎浩子, 石岡敏三, 橋本祐一: ホモフタルイミド型特異的アミノヘプテダーゼ阻害剤の構造修飾と開発.

日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

5) 石岡利康, 高橋裕保, 小磯邦子, 袖岡幹子, 橋本祐一:

新規アンドロゲンアンタゴニストの創製.

日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

6) 莊藤聡, 高橋裕保, 山崎龍, 橋本祐一: 非糖型新規  $\alpha$ -グルコシダーゼ阻害剤の創製. 日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

7) 真弓聡, 我妻明彦, 小林久芳, 橋本祐一, 遠藤泰之, 袖岡幹子:

ホルボールエステル結合タンパク質としての PKC. 日本薬学会 第 121 年会, 札幌, 9.26-9.30, 2001

## 8) Yuichi Hashimoto

Development of biological response modifiers based on retinoids and thalidomide.

第15回日仏医薬精密化学会議, 奈良, 5.7-5.10, 2001

9) **Poste Session: Hiroyuki Kagechika, Masayuki Ebisawa, Kiminori Ohta, Emiko Kawachi, Hiroshi Fukasawa and Yuichi Hashimoto:**

**Novel synthetic retinoids and retinoid synergists.**  
第15回日仏医薬精密化学会議, 奈良, 5.7-5.10, 2001

10) **Ryuichi Shirai, Kosuke Dodo, Masato Takahashi, Kenji Koga and Yuichi Hashimoto:**

**Asymmetric total synthesis of cdc25A inhibitor dyssidolide and its analogs.**

第15回日仏医薬精密化学会議, 奈良, 5.7-5.10, 2001

11) **Kazuo Nagasawa, Angelina Georgieva, Takanori Ishiwata, Hiroyuki Koshino, Yuichi Hashimoto, Tadashi Nakata:**

**Synthetic studies on polycyclic guanidine alkaloids.**  
International Congress of Heterocyclic Chemistry  
横浜, 7.29 - 8.3, 2001

12) **Hiroki Kakuta, Hiroyasu Takahashi, Kazuo Nagasawa, Yuichi Hashimoto:**

**Novel specific inhibitors of puromycin-sensitive aminopeptidase.**

International Congress of Heterocyclic Chemistry  
横浜, 7.29 - 8.3, 2001

13) **Ryuichi Shirai, Masato Takahashi, Kosuke Dodo, Kenji Koga, Yuichi Hashimoto:**

**Asymmetric synthesis of cdc25A inhibitor dyssidolide and its potent analogs.**

International International Congress of Heterocyclic Chemistry  
横浜, 7.29 - 8.3, 2001

14) **Bitoku Takahashi, Masayuki Ebisawa, Kiminori Ohta, Emiko Kawachi, Hiroshi Fukasawa, Yuichi Hashimoto, Hiroyuki Kagechika:**

**Retinoid synergistic dibenzodiazepine and pyrimidine derivatives.**

International Congress of Heterocyclic Chemistry  
横浜, 7.29 - 8.3, 2001

15) **長澤和夫, 高多崇也, 橋本祐二, Angelina**

**Georgieva, 中田忠:**

**新規5環性グアニジン化合物を触媒とする不斉合成反応の開発**

第27回 反応と合成の進歩シンポジウム・ライフサイエンスを志向した理論, 反応および合成, 仙台, 11.5 - 6, 2001

16) **西川明日香, 菅原憲司, 白井隆一, 橋本祐二:**

**Phosphatidylinositol 3,5-bisphosphate (PI3,5-P2)の合成**

第27回 反応と合成の進歩シンポジウム・ライフサイエンスを志向した理論, 反応および合成, 仙台, 11.5 - 6, 2001

17) **藤井晋也, 石坂利康, 小磯邦子, 橋本祐二, 遠藤泰之:**

**ホウ素クジスターを疎水性ファーマコフォアとするアンドロゲンアンタゴニストの設計と合成**

第24回メデイシナルケミストリーシンポジウム, 京都, 11.28 - 30, 2001

18) **橋本祐二:**

**レチノイドとサリドマイドをリードとする生物応答調節剤の創製研究**

第24回日本分子生物学会年会, 横浜, 2001

## **H. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

## カスパーゼの立体構造のためのタンパク質発現系

分科研究者 東京大学大学院農学生命科学研究科 川之倉 優

研究要旨: カスパーゼのホモロークが存在しない大腸菌、酵母にてカスパーゼ 12 を発現させ、酵母を用いた糸を用い、タンパクを精製した結果、カスパーゼ 12 タンパクが得られた。このカスパーゼ 12 タンパクについて解析を行なったところ、全長である 61 kDa の断片とともに 35 kDa 付近の断片が検出された。このことから、35 kDa の断片は、精製したカスパーゼ 12 が N 端で切断されたものであると考えられた。この断片は酵母の糸での発現において、何らかのストレスがかかった結果により、カルパインにより切断されたものと示唆された。

### A. 研究目的

小胞体は、リソゾームで合成されたタンパク質の正常な折りたたみ、すなわち糖鎖修飾や立体構造を形成させる場である。この折りたたみが不完全なタンパク質 (unfolded protein) は小胞体内でストレス (ER ストレス) を引き起こし、Ire-1 を介して JNK の活性化と unfolded protein response (UPR) による Bip/Grp78 などのシャペロン蛋白の発現を誘導し、折りたたみの正常化を図るが、過度に蓄積すると、プロテアソーム、リソゾームの分解系に輸送される。さらにそれでも処理できないときは、UPR および ER から放出されるカルシウムにより細胞死が引き起こされることが知られている(図 1)。こうした ER ストレスによる細胞死はアルツハイマー型痴呆、ポリグルタミン蓄積病などの神経変性疾患の原因の一つと考えられている。カスパーゼ 12 は小胞体に局在するカスパー

ゼであり、ER ストレスから始まる細胞死のシグナル伝達系であるカスパーゼカスケードの最上流に位置する。ER ストレスにより放出されたカルシウムはカルパインを活性化し、カルパインはカスパーゼ 12 を T132-A133 または K158-

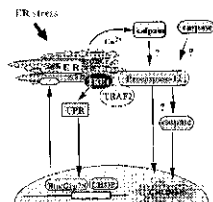


図 1 ER ストレスによるカスパーゼ-8 の活性化

T159 で切断する。これによりカスパーゼは D318 部位で自己切断し、活性化プロセームに変換することが報告されている。

しかし、齋田(桃井研究室)らは、カスパーゼ 12 が自己切断部位である D318 以外に、ER ストレスにより D341 で切断されることを明らかにした。カスパーゼ 12 より下流に位置するカスパーゼ 9 の場合、N 末端の 100 残基のドメイン (CARD)がカスパーゼ 9 を活性化する因子である Apaf-1 と相互作用することが知られている。しかしながら、この相互作用に関する残基はカスパーゼ 12 では保存されておらず、カスパーゼ 12 の活性化はカスパーゼ 9 のそれとは異なる機構によるものと考えられる。本研究は小胞体ストレスによる細胞死におけるカスパーゼ 12 の立体構造解析を行い、カスパーゼ 12 の活性化機構を明らかにすることを目的とする。今年度は大量発現系の構築として、カスパーゼのホモログが存在しない大腸菌および酵母でカスパーゼ 12 を発現させ、リコンビナントタンパク質を精製し、得られたカスパーゼ 12 のプロセッシングについて検討を行った。

## B. 研究方法

カスパーゼ 12 タンパク質の作製法として、大腸菌および酵母を用いる方法を用いた。クローニングしたカスパーゼ 12 を GST 産物発現ベクター-pGEX-4T-3 に組み替え、大腸菌にて GST 融合タンパク質を作製し、これをグルタチオンセファロース 4B(ファルマシア)担体を用いたアフィニティークロマトグラフィーによりタンパク質を精製した。また、カスパーゼ 12 を酵母発現ベクター-pT1.2M5 に組み替え、酵母にて His 融合タンパク質を作製し、ニッケルカラム

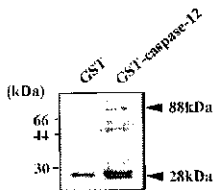


図 2 大腸菌で発現した GST-カスパーゼ 12 フュージョンタンパク質の抗 GST 抗体による検出

を用いたアフィニティークロマトグラフィーにて精製した。作成したタンパク質の解析にはイムノブロットを用いた。得られたタンパク質溶液は、12% SDS-アクリルアミドゲルにて泳動し、ニトロセルロースフィルターにブロッティングした。His タグ抗体と反応させた後、二次抗体としてアルカリホスファターゼ結合ヤブ抗ラビットイムノグロブリンを用い、発色液で反応させた。

## C. 研究結果

### 1) 大腸菌によるカスパーゼ 12 の発現

カスパーゼ 12 のタンパク質を採取するため、カスパーゼ 12 の N 端に GST タグを付加させ、大腸菌に発現させた。さらにグルタチオンセファロースカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーによりタンパク質を精製し、抗 GST 抗体を用いてウェスタンブロッティングにより解析を行った。その結果、GST-カスパーゼ 12 タンパク質は、発現しているものの、発現段階で多

くの部位で切断されていることが明らかになった(図2)。

## 2) 酵母によるカスパーゼ12の発現

大腸菌では多くの部位で切断されたことから、カスパーゼ12タンパク質の精製および解析が困難であると考え、酵母によるタンパク質発現を検討した。カスパーゼ12のC端にHisタグを付加したコンストラクトを、リチウム法を用いて酵母に導入し(図3)、まず少量培養液をウェスタンブロットリング(抗His抗体を使用)により解析して発現を確認した。その結果、カスパーゼ12-His酵母タンパク質(6kDa)が発現していることを確認した。

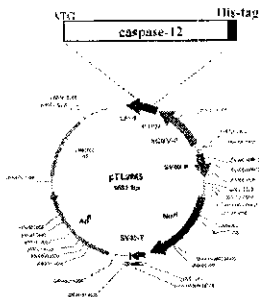


図3 酵母でのカスパーゼ12発現ベクターの構築

また、大量培養を行い、タンパク質を精製した結果、1Lの培養液中から、約200mgのカスパーゼ12タンパク質が得られた。抗His抗体を用いて、精製したカスパーゼ12タンパク質をウェスタンブ

ロットリングにより解析を行なったところ、全長である61kDaの断片とともに35kDa付近の断片が発出された。このことから、酵母より精製したカスパーゼ12はN端で切断されることが示唆された。

そこで、そのサイズからアミノ酸切断部位を推測したところ、切断部位はカルパイン切断部位といわれているT132、K158部位付近であると考えられたため、カスパーゼ12のT133-終止コドンおよびK159-終止コドンまでのコンストラクトを作成し、CDS領域を用いてタンパク質を作成し、分子量を比較した。その結果、35kDaの断片はT133-終止コドンまで断片と一致した。(図4) その結果、すなわち、酵母での発現では、なんらかのストレスがかかり、カルパインにより切断されたものと思われる。

## D. 考察

カスパーゼ12は、Nakagawaら(J. Cell Biol., 2000)により、カルパインによりT132-A133、K158-T159で切断されると、D318部位が自己切断され、活性化へと変換されることが報告されている。また、カスパーゼ12はTRAF2(tumor necrosis factor receptor-associated factor 2)と結合しているが、小胞体のシグナルによりTRAF2がIre1と結合するために、カスパーゼ12がTRAF2から遊離して活性化を形成することにより、オートプロセッシングを起こし活性を示すようになるという説(Yoneda et al., J. Biol. Chem., 2001)と、カスパーゼ12がカスパーゼ7により

D94 部位が切断されることにより、続いて D341 部位がオートプロセッシングにより、切断され活性化型に変換される説(Kao et al., J. Biol. Chem., 2001)も報告されている。

本年度研究により、酵母で発現させたカスパーゼ 12 は D318 部位で切断されず N 端が切断されたという結果が得られた。そして、その切断部位は、N 端部位を欠失させたカスパーゼ 12 を作成し、そのサイズを比較したことによって、カルパイン切断部位といわれているカスパーゼ 12 の T132 部位付近であることが明らかとなった。酵母には最近のゲノム解析の結果からカルパインとホモログ

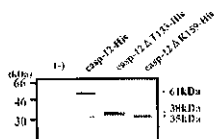


図4 酵母で発現したカスパーゼ 12 の His タグ抗体による検出

を持つ遺伝子を有していることが明らかとなったことから、このカスパーゼ 12 の T132 部位付近での切断はカルパインによるものではないかと考えられる。酵母ではカルパインで切断されると言われる部位付近で切断され、CARD ドメインが先に切断されてしまうため重合体を形成できず相互作用が起これないと示唆される。今後、カルパイン欠損酵母にカスパーゼ 12 を発現する菌株やカスパーゼ 12 を発現させて、酵母でのストレスに対するプロセッシング、活性化について研究を進めたいと考えている。さらに、

完全長カスパーゼ 12 の大量発現系を構築し、結晶化による立体構造決定を行いたいと考えている。

## E. 結論

カスパーゼのホモログが存在しない大腸菌、酵母にてカスパーゼ 12 を発現させ、リコンビナントタンパク質を精製し、カスパーゼ 12 のプロセッシングについて検討を行った。大腸菌を用いた系では、カスパーゼ 12 が発現段階で多くの小断片に切断されたため、タンパクの精製および解析、大量調製が困難であると考えた。酵母を用いた系では、大量培養を行い、タンパクを精製した結果、1 L の培養液の中から、約 200μg のカスパーゼ 12 タンパクが得られた。また、得られたカスパーゼ 12 タンパクについて解析を行ったところ、全長である 61 kDa の断片とともに 35 kDa 付近の断片が検出された。このことから、35 kDa の断片は、精製したカスパーゼ 12 が N 端で切断されたものであると考えられた。この断片を、カルパインによる切断部位である T133-終止コドンおよび K139-終止コドンまでのタンパク質を作製して分子量を比較することにより、T133-終止コドンまでの断片と一致したことから、酵母の系での発現において、何らかのストレスが働き、カルパインにより切断されたものと示唆された。

我々は、酵母によるタンパクの精製法にあたり、様々な変異から再探究しており、その中の一つとしてプロテアーゼ欠損酵母株の開発についても試みている。カスパーゼ 12 およびカルパインの両者とも

にプロテアーゼであることから、今後欠損株の開発により、カスパーゼ 12 の活性化機構を解析が進むことが期待できるものと考えている。また、今回構築した発現系をもとに大量発現したタンパク質を用いて X 線構造解析を行い、活性化の分子機構を明らかにすることができると考えている。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Sakai, N., Yao, M., Itou, H., Watanabe, N., Yumoto, F., Tanokura, M., Tanaka, I. The three-dimensional structure of septum site-determining protein MinD from *Pyrococcus horikoshii* OT3 in complex with Mg-ADP. *Structure* 9: 817-826 (2001)
- 2) Yumoto, F., Nara, M., Kagi, H., Iwasaki, W., Ojima, T., Nishita, K., Nagata, K., Tanokura, M. Coordination structures of  $Ca^{2+}$  and  $Mg^{2+}$  in Akazara scallop troponin C in solution: FTIR spectroscopy of side-chain COO<sup>-</sup> Groups. *Eur. J. Biochem.* 268: 6284-6290 (2001)
- 3) Kobori T, Sasaki H, Lee WC, Zenno S, Saigo K, Murphy MB, Tanokura M. Structure and site-directed mutagenesis of a flavoprotein from *Escherichia coli* that reduces nitrocompounds: alteration of pyridine nucleotide binding by a single amino acid substitution. *J Biol Chem.* 276: 2816-2823 (2001)

### 2. 学会発表

- 1) 李恩行, 櫻井雅弘, 小塚俊郎, 佐木家, 五野修平, 西郷薫, 田之倉優;  
大腸菌の major nitroreductase NfsA の放射光を用いた構造解析,  
第 14 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム, 広島, 2001
- 2) 田之倉優;  
放射光の利用ー生命科学, VSX 研究会「放射光で何がわかるか?」, 東京大学高輝度光線計画入門\_1, 東京, 2001
- 3) 鈴木論太郎, 永田憲次, 古谷昌弘, 丸山正, 田之倉優 ;  
2D EXSY NMR による好気古細菌の PKB1 の活性測定, 日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集 294, 京都, 2001
- 4) 加茂昌之, 金子真美, 善野修平, 西郷薫, 田之倉優;  
発光細菌 *Photobacterium luminescens* シンプレウーゼの精製と結晶化,  
日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集 299, 京都, 2001
- 5) 伊藤三恵, 永田憲次, 加藤亮介, 山越祥, 鈴木和男, 田之倉優;  
サイトカイン LECT2 の NMR による高次構造解析, 日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集 314, 京都, 2001
- 6) Sarykova, Maral, 山田真史, 藤見安雄, 田之倉優;  
Selfish maintenance of BamHI RM gene complex on *Bacillus subtilis* chromosome resistance to replacement through post-segregational host killing and gene duplication, 日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集 348, 京都, 2001
- 7) 吉川正人, 村崎和英, 武田篤, 田之倉優;  
ヒト SCCA 1(Carcinoma cell carcinoma antigen)の発現, 精製, 結晶化,  
日本農芸化学会 2001 年度大会講演要旨集



383, 京都, 2001

8) 田之倉優

蛋白質複合体と集合系の構造生物学

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 58, 大阪, 2001

9) 高川正人, 村崎和美, 武田策, 田之倉優:  
ヒト SCCA 1(Squamous cell carcinoma  
antigen)の発現, 構造, 結晶化,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 130, 大阪, 2001

10) 鈴木俊太郎, 川上将, 永田宏次, 湯本  
史実, 古谷昌弘, 根本瞬明, 足立基平, 大  
山正, 田之倉優:

好熱古菌 *Methanococcus thermoautotrophicus*  
のFKBPの構造と機能,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 193, 大阪, 2001

11) 野澤楓子, 荻野賢一, 村松知成, 永田  
宏次, 田之倉優:

バイナッブル基生米ゾロメラインインヒビ  
ターの構造機能相関の解析,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 198, 大阪, 2001

12) 伊藤三志, 永田宏次, 加藤百介, 山崎  
世, 鈴木和男, 田之倉優:

サイトカイン LECT2 の NMR による高次  
構造解析,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 199, 大阪, 2001

13) 湯本史実, 永田宏次, 岩崎わかな, 足  
立基平, 小林由枝, 根本瞬明, 尾崎孝男, 西  
田清哉, 田之倉優:

アフラジカイ阻酵糖トロボニンCの構造解  
析,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 241, 大阪, 2001

14) 加茂昌之, 金子直典, 野澤修平, 西郷  
薫, 田之倉優:

発光細菌 *Photobacterium luminescens* 蛍光  
ペプチドの精製と結晶化,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 242, 大阪, 2001

15) 加藤百介, 伊藤三志, 河合敬二, 永田  
宏次, 田之倉優:

さまざまな WW ドメインの Surface plasmon  
resonance (SPR) を用いた相互作用解析,

第1回日本蛋白質科学会年会プログラム要旨集 427, 大阪, 2001

16) 田之倉優

クロロウジカビ毒性フラボノイド A の結晶  
構造と機能,

日本生化学会東北支部第 67 回例会ーシン  
ポジウム・特別講演講演要旨集, 仙台, 2001

17) Kobori, T., Lee, W. C., Sasaki, H., Knike,  
H., Zenno, S., Saigo, K., Murphy, M. E. P.,  
Adnan, E. T. and Tanokura, M.:

Interaction of flavin reductase with its  
competitive inhibitors.

Keihanna International Conference on  
Molecular Biophysics "New Approaches to  
Solution Interactions of Biological Molecules"  
T20, Kyoto, 2001

18) 森井孝之, 伊藤三志, 清水隆, 田之倉  
優:

モータータンパク質の stalk 領域の  
collected-coil 形成能の評価,

日本生物物理学会第 39 回年会講演予稿集  
S194, 大阪, 2001

19) Hu, F. and Tanokura, M.:

Structural genomics of hyperthermophile  
*Pyrococcus horikoshii*.

International workshop on Bioactive Natural  
Products, Tokyo, 2001

20) Lee, W. C., Kimura, S., Zenno, S., Saigo,  
K. and Tanokura, M.:

The X-ray crystal structure of nitroreductase

RdxA from gastric pathogen *Helicobacter pylori*. International workshop on Bioactive Natural Products, Tokyo, 2001

21) 田之倉優, 李恩輝, 櫻井雅弘, 佐々木宏, 善野修平, 西郷薫;

酵素の構造と機能。ニトノノフラビン還元酵素を例に。

バイオイメージング第10回学術集会講演要旨集10巻3号, 53-1-106, 東京, 2001

22) 寺内弘和, 又澤直人, 三浦勝彦, 伊東幸祐, 田之倉優, 三浦謙一郎, 勝又敏行, 中野實;

組織欠体ブタ卵子透明帯糖タンパク質の精子結合活性。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 1P-079-597, 大阪, 2001

23) 田中俊充, 中村彰男, 小濱一弘, 岩崎わかな, 佐々木宏, 田之倉優;

方ジラゲイ結合タンパク質 (BJP40) の機能構造解析。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 1P-240-723, 大阪, 2001

24) 人本親寛, 永田宏次, 阿部啓子, 櫻井裕一, 田之倉優;

オリザシスタチンのホモダイマーの機能構造解析。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 1P-545-772, 大阪, 2001

25) 澤野慎一, 森野賢一, 杉松丸成, 永田宏次, 田之倉優;

パイナップル (*Ananas comosus*) 茎生葉プロモライニンインヒビターの構造機能に関する解析。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 1P-546-772, 大阪, 2001

26) Marat, S., 半田直史, 森見安雄, 田之倉優, 板谷光泰, 小林一三;

染色体上の制限酵素修飾酵素遺伝子の自己

増殖。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 3P-238-834, 大阪, 2001

27) 櫻井雅弘, 善野修平, 西郷薫, 田之倉優;

大腸菌にトロ還元酵素 KfsA のランダム変異導入による反応時発光の解析。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 3P-528-897, 大阪, 2001

28) 加茂昌之, 金子直美, 善野修平, 西郷薫, 田之倉優;

発光細菌 *Photobacterium luminescens* のシシユラ…ゼの精製と結晶化。

第74回日本生化学会大会発表抄録集 4P-055-953, 大阪, 2001

29) Sawano, Y., Hatano, K., Muramatsu, T., Nagata, K., and Tanokura, M.;

Cloning, Expression and Processing Mechanism of Bromelain Inhibitors

2<sup>nd</sup> General Meeting of the International Proteolysis Society (IPS), Munich, 2001

30) 湯本史明, 永田宏次, 岩崎わかな, 尾豆誠子, 小林山枝, 根本暢明, 淵島孝男, 西出清義, 田之倉優;

ジラゲイ閉鎖能トロポニン C の C 末端半分子の溶液構造解析。

第40回 NMR 討論会講演要旨集 362, 京都, 2001

31) Yumoto, E., Nagata, K., Iwasaki, W., Adachi, K., Kobayashi, Y., Nemoto, N., Ojima, T., Nishita, K., and Tanokura, M.;

Structural analysis of the C-terminal half of Akazara scallop tropomyosin C in solution.

Abstract of International Workshop, Actin filament from structure to mechanism 19, 兵庫, 2001

32) Sadykov, M., Handa, N., Asami, Y., Tanokura, M., Itaya, M., and Kobayashi, I.

**Amplification of a selfish restriction-modification gene complex.**

第 24 回日本分子生物学会年会プログラム  
1P-160 (62), 横浜, 2001

33) 伊藤三恵, 永田宏次, 加藤有介, 山越智, 山本健二, 鈴木和男, 田之倉優:

サイトカイン LECT2 の高次構造解析. 第  
24 回日本分子生物学会年会プログラム  
3P-113 (146), 横浜, 2001

34) Dawson, W., Ishida, M., Kameoka, Y., Yamagoe, S., Futanura, Y., Yamamoto, K., Suzuki, K., and Tanokura, M.:

A combined study of the LECT2 protein using molecular dynamics simulation and NMR chemical shift data.

第 24 回日本分子生物学会年会プログラム  
4P-102 (191), 横浜, 2001

35) 田之倉優, 伊藤三恵, 永田宏次, 山越智, 山本健二, 鈴木和男:

LECT2 の高次構造解析.  
第 4 回肝臓生物学会プログラム, 千葉, 2001

36) Dawson, W., Ito, M., Nagata K., Yamagoe S., Tanokura, M., Yamamoto, K., Suzuki, K.:  
Analysis of 3D-Structure of LECT2.

第 4 回肝臓生物学会プログラム, 千葉, 2001

## 11. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

### Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻名	ページ	出版年
Fujita E, Egashira J, Grise K, Kuida K, Momoi T.	Caspase-9 processing by caspase-3 via a feedback amplification loop <i>in vivo</i> .	Cell Death Differ.	8	335-344	2001
Yunoto F, Nara M, Kagi H, Iwasaki W, Ojima T, Nishita K, Nagata K, Tanokura M.	Coordination structures of Ca <sup>2+</sup> and Mg <sup>2+</sup> in Akazara scallop troponin C in solution. FTIR spectroscopy of side-chain COO <sup>-</sup> groups	Eur. J Biochem.	268	6284-6290	2001
Kobori T, Sasaki H, Lee WC, Zenna S, Saigo K, Murphy ME, Tanokura M.	Structure and site-directed mutagenesis of a flavoprotein from <i>Escherichia coli</i> that reduces nitrocompounds: alteration of pyridine nucleotide binding by a single amino acid substitution.	J Biol Chem.	276	2816-2823	2001

### Ⅲ 研究成果の刊行に関する一覧表

20010618

以降のページは雑誌/図書等に掲載された論文となりますので  
「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。