総説

阻害剤開発のための2種のプロスタグランジン合成酵素の構造と機能

井上 豪 大阪大学大学院工学研究科
裏出良博 大阪バイオサイエンス研究所

The structural based drug-design (SBDD) is one of the useful methods for producing a novel medicine. We recently succeeded in X-ray crystallographic determination of two target molecules. One is human hematopoietic prostaglandin (PG) D synthase (H-PGDS) that produces PGD_2 as an allergic mediator in mast cells and Th2 cells. The other is *Trypanosoma brucei* $\text{PGF}_{2\alpha}$ synthase (TbPGFS), a member of the aldo-ketoreductase superfamily, catalyzes the NADPH-dependent reduction of PGH_2 to $\text{PGF}_{2\alpha}$, whose overproduction during trypanosomiasis causes miscarriage in infected female subjects. In this report, we introduce the recent progress in the research of the high resolution structures of human H-PGDS and TbPGFS useful for SBDD.

prostaglandin (PG) / PGD_2 synthase / $\text{PGF}_{2\alpha}$ synthase / structure / drug design

1. はじめに

プロスタグランジン (PG) は生体内で局所ホルモンとして産生され、さまざまな生理機能の調節に関与している。中でも PGD_2 は、脳などの中枢神経系では睡眠誘発物質として¹⁾、末梢組織ではアレルギーの媒介物質として機能する^{2), 3)}。一方、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ は、子宮平滑筋の収縮作用を有し⁴⁾、陣痛促進剤として広く臨床応用されている。これら PG 類は、細胞膜からホスホリパーゼ A_2 の働きで作られたアラキドン酸が、シクロオキシゲナーゼ (COX) により PGH_2 へと変換されたのち、それぞれ特異的酵素によって生合成される (Fig. 1)。リポカリン型 PGD 合成酵素 (L-PGDS) は、脳のクモ膜に局在し、睡眠誘発物質としての PGD_2 を生合成し、造血器型 PGD 合成酵素 (H-PGDS) は、おもに肥満細胞や Th2 細胞に存在し、アレルギー伝達物質としての PGD_2 を産生する。一方、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ を産生する酵素は2種類存在し、 PGH_2 以外に PGD_2 や PGE_2 も基質とする PGF 合成酵素 (PGFS) と、 PGH_2 のみを特異的に認識する PGFS がある。

アスピリンの発見から 100 年余りの間、鎮痛および解熱剤の開発は、アラキドン酸カスケードの上流タンパク質である COX をターゲットにして開発され、インドメタシンなどが世に出され抗アレルギー剤として

も利用された。しかし、カスケードの上流を止めると抗炎症作用胃粘膜の保護作用を示す PG 類の産生が止まるため、さまざまな副作用を伴うことも知られるようになった。COX の下流には2種の PGDS が存在しているが、より副作用の少ない抗アレルギー剤の開発には、選択的に H-PGDS を阻害する薬剤の開発が必要である。同様に、PGFS をターゲットとした阻害剤は、より副作用の少ない流産防止薬となる可能性がある。そこでわれわれは、ヒト由来 H-PGDS およびアフリカ睡眠病の病原虫トリパノソーマ由来 PGFS の2種の PG 合成酵素の X 線構造解析を行い、構造をもとにした阻害剤の開発に着手した。本報ではこれまでの成果を紹介するとともに、宇宙実験や創品プロジェクトに参画し、従来法とは異なった結晶化方法を利用することで得られた成果についても触れる。

2. 造血器型プロスタグランジンD合成酵素 (H-PGDS)に関するこれまでの研究

ヒト由来 H-PGDS は、アミノ酸残基数 198 個、分子量 23,300 のグルタチオン (GSH) 要求性 ($K_m = 300 \mu\text{M}$) 酵素で、グルタチオン S 転移酵素 (GST) のスーパーファミリーに属し、ダイマーで機能する比較的小さな酵素である。肥満細胞や Th2 細胞などに多く分布す

Structure and Function of Two Prostaglandin (PG) Synthases for Drug Design

Tsuyoshi INOUE¹ and Yoshihiro URADE²

¹Materials Chemistry, Graduate School of Engineering, Osaka University

²Molecular Behavioral Biology, Osaka Bioscience Institute

Fig. 1

Arachidonate cascade. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys>参照)

る。最近, PGD₂を過剰発現したマウスではアレルギー反応が加速され⁵⁾, 逆に PGD₂に対する特異的レセプター (DP) のノックアウトマウスではアレルギー反応が抑制されることも報告された³⁾。したがって, H-PGDSの阻害剤は抗アレルギー薬や抗炎症薬としての利用が期待できる。

1997年, ラット由来 H-PGDS の3次元立体構造が2.3 Å分解能で報告され, モノマー構造は, 4本のβストランドと3本のαヘリックスで構成されるN末端側ドメインと, 5本のαヘリックスで構成されるC末端側ドメインの2つのドメインからなり, 全体構造は他のGSTと類似するが, 活性に関与するTrp104の側鎖の配向が他のGSTの構造にはない特徴を有することが報告された⁶⁾。変異体の実験から, 補酵素GSHの活性化に必須のアミノ酸残基, 基質PGH₂の結合に関与するアミノ酸残基および活性の維持に必須のアミノ酸残基がそれぞれ特定された⁷⁾。

2.1 ヒト由来 H-PGDS の X 線構造解析と金属イオン効果の発見

われわれがヒト由来 H-PGDS を結晶化したところ, ラット由来 H-PGDS とは空間群の異なる結晶が得られ, X線回折強度データの分解能が向上した。水銀誘導体結晶を使ったMAD法により解析し, 最終的にCa²⁺およびMg²⁺結合型 native 酵素の結晶構造をそれぞれ1.8 Å, 1.7 Å分解能で精密化した。さらに, ダイマーの中心に存在する金属イオンによる活性化のメカニズムを, native 型および各種変異体を用いた生化学実験により解明した (Fig. 2)。その結果から, 高等動

Fig. 2

Schematic drawing of human H-PGDS. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys>参照)

物由来の H-PGDS は, Ca²⁺ や Mg²⁺ などの2価カチオンにより酵素活性が約50%上昇し, 特に, Mg²⁺ は, 数十μMのEC₅₀で補酵素GSHの親和性を4倍以上向上させることが判明した。細胞内では数mMのMg²⁺が含まれるため, 生体中ではH-PGDSはMg²⁺結合型の2量体として存在し, 活性化されていることが予想された⁸⁾。

2.2 宇宙空間を利用した超高分解能での構造解析による検証

金属イオン効果をさらに詳細に構造化学的に解明するため, より高分解能での構造解析を目指してヒト由来 H-PGDS を微小重力下で結晶化する宇宙実験に参加した。残念ながら, 2003年1月のスペースシャトルを利用したSTS-107計画では, コロンビア号の爆発

Fig. 3

Metal activation mechanism of H-PGDS. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys>参照)

Fig. 4

Proposed reaction mechanism of H-PGDS. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

事故のため結晶を得ることができなかったが、その後ロシアのソユーズを利用して、国際宇宙ステーションにおけるゲルチューブ法による本酵素の結晶化を行い^{9), 10)}, 1.35 Å 分解能という高分解能での構造解析に成功した。その結果、GSH と Arg14 の間に存在する水分子を捕らえることに成功した (Fig. 3)。これにより、GSH, Arg14, Asp96, Mg^{2+} が水素結合ネットワークによりつながり、特にイオン半径の小さい Mg^{2+} や Mn^{2+} の場合に Asp96 と Arg14 の間の水素結合が切断されて、Arg14 の自由度が上がり、プラスの電荷を帯びた水分子を介して GSH が活性化されることが判明した。

2.3 H-PGDS の反応機構の解明

続いて、基質 PGH_2 の類似物 (U-46613, methanoepoxy prostaglandin $F_{2\alpha}$) との複合体の構造解析を行ったところ、シクロペンタン環の 11 位の炭素原子に結合するペルオキシド酸素が GSH の S 原子から 3.3 Å の位置に観察された。本酵素は GST 活性も有し、1-クロロ-2,4-ジニトロベンゼンなど他の基質と GSH の間で共有結合を形成して複合体を形成し、これを酵素外へ排出する反応を触媒する。この観点から、 PGD_2 が生成する反応においても、GSH の S 原子が基質の 11 位のエンドペルオキシド酸素を攻撃し、いったんは共有結合で結ばれた複合体が形成され、酵素外へ排出されたのち、11 位のプロトンが引き抜かれて PGD_2 が選択的に産生されると推測される (Fig. 4)。

3. H-PGDS の阻害剤開発

本酵素の活性部位の構造および反応機構に関する情報をもとに抗アレルギー剤の開発に寄与するため、これまでに Fig. 5 に示す種々の阻害剤との複合体の構造

解析を行った。

3.1 BSPT 複合体の構造

阻害剤 BSPT (2-(2'-benzothiazolyl)-5-styryl-3-(4'-phthalhydrazidyl) tetrazolium chloride, Fig. 5a) は、1 mM の EDTA/EGTA 存在下で IC_{50} 値が 36.2 μM の阻害率を示すが、2 mM の Mg^{2+} 存在下では $IC_{50} = 98.1 \mu M$ まで活性が低下した (Fig. 6 左)。2.1 Å 分解能の複合体の構造解析から、BSPT のスチリル環とフタルイミド環の電子密度が低く、補酵素 GSH と立体障害を起こすことが判明した (Fig. 6 右)。既述した金属イオン効果の影響により、 Mg^{2+} 存在下では GSH の親和性は 4 倍以上向上するため、阻害剤 BSPT のように GSH と立体障害を起こす場合は、 Mg^{2+} 存在下では阻害率が低下する可能性が示唆されていたが、本阻害剤はその典型例となった。H-PGDS は生体中では Mg^{2+} により活性化され GSH 結合型で存在すると予想されるため、GSH と拮抗する阻害剤 BSPT は生体中でもその阻害効果は大幅に低下し、抗アレルギー作用も弱いことが予想された¹¹⁾。

3.2 アントラキノン骨格を有する PGD-042 とチバクロンブルーの複合体の構造解析

チバクロンブルーおよび PGD-042 はアントラキノン骨格を共通にもつにもかかわらず、それらの IC_{50} 値は大きく異なり、EDTA 存在下でそれぞれ 13 nM, 8.5 μM と約 700 倍程度も阻害活性が異なる。この違いを構造化学的に議論する目的で、これら 2 つの阻害剤との複合体の X 線構造解析を行った。チバクロンブルー複合体では、PGD-042 の X 線構造と比べてアントラキノン骨格が反転し、末端の硫酸基が、酵素の活性部位とされる pocket3 の Lys112 および Lys198 と水素結合を形成していた (Fig. 7)。この 2 つのアミノ

Fig. 5

Inhibitors for human H-PGDS. (a) BSPT. (b) PGD-042 and Cibacron blue. (c) HQL-79, and its derivatives. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

酸残基は、基質 PGH_2 の α 鎖のカルボン酸を認識するために重要であると考えられる。したがって、これらのリシン残基と水素結合を形成しうる阻害剤は活性が高くなることが示唆された。

3.3 HQL-79 の H-PGDS に対する阻害結合様式

HQL-79 (Fig. 5c) は、ラットの喘息モデルを使った経口投与による実験で、抗アレルギー効果が確認されている阻害剤であり、EDTA 存在下および Mg^{2+} 存在下で IC_{50} 値がそれぞれ 15.6, 5.8 μM であった。反応速度論的解析の結果、HQL-79 は基質 PGH_2 と拮抗し、

補酵素 GSH とは拮抗しないことが証明された。BIACORE を使った表面プラズモン共鳴の実験から、HQL-79 の H-PGDS への結合に対する K_d 値は、 Mg^{2+} および GSH の存在下で 0.8 μM だが、同じ Mg^{2+} 存在下でも GSH 非存在下では 11 μM と悪化し、 Mg^{2+} 効果により強固に結合した GSH 分子が、阻害剤 HQL-79 の結合をより安定化するという結合様式が明らかとなった¹²⁾。1.45 Å 分解能での H-PGDS/HQL-79 複合体の X 線構造から、HQL-79 の結合は、反応中心ポケットの上部に位置する Trp104 の大きな回転を伴い、ジフェニル基の一方のフェニル環が入りこんで反応を阻

Fig. 6

(a) The inhibition of the PGDS activity as a function of the concentration of BSPT added. (b) The BSPT complex structure with 2Fo-Fc electron density map. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

Fig. 7

Complex structures with PGD-042 and Cibacron blue. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

害することが判明した (Fig. 8).

3.4 HQL-79 誘導体との複合体の X 線結晶構造解析

阻害剤 HQL-79 はテトラゾール環を有し抗ヒスタミン作用も発揮することから、抗アレルギー作用に特化した阻害剤を開発するため、テトラゾール環をフタルイミド環に変更し、その効果を検証した。また、Fig. 5 に示すように炭素鎖長についても検討し、3 種の阻害剤について複合体の X 線構造解析を行った。C=2 のときは、フタルイミド環が GSH 結合部位に入りこんで GSH 分子と拮抗するため、3.1 で示した阻害剤 BSPT の場合と同様に、金属イオン効果を受け、 Mg^{2+} 存在下では阻害率が大きく悪化した。一方、C=3 および C=4 ではフタルイミド環が GSH と拮抗せず、むしろ C=4 のときは IC_{50} 値が $1.3 \mu M$ まで改善された (Fig. 5c)。これは、C=4 の場合にフタルイミド環が疎水性のポケットにはまり、安定化を受けたことが原因と考えられた (Fig. 9)。

Fig. 8

The superimposed structure of HQL-79 complex with the native structure. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

4. アフリカ睡眠病の病原虫由来 プロスタグランジン F 合成酵素 (TbPGFS)

プロスタグランジン $PGF_{2\alpha}$ は、子宮平滑筋を収縮させるので、陣痛促進剤として広く臨床応用されている。人畜共通の感染症であるアフリカ睡眠病の病原虫 *Trypanosoma brucei* 由来の PGF 合成酵素 (TbPGFS) は、NADPH を補酵素として PGH_2 の 9,11-エンドペルオキシドを還元して $PGF_{2\alpha}$ に変換する。*T. brucei* の感染時には、血中に大量の $PGF_{2\alpha}$ が放出されるため、特に家畜の流産との関係が指摘されている。このため、TbPGFS の阻害剤は流産の予防薬となる可能性を秘めているだけでなく、寄生虫がなぜ大量の $PGF_{2\alpha}$ を産生するのかという病理学的研究にも応用できる。

4.1 TbPGFS の構造解析

当初、硫酸アンモニウムを沈殿剤として結晶化に成功し、常温下で $2.6 \text{ \AA}$ 分解能の回折データを収集した¹³⁾。しかし、結晶化の再現性が悪く、レーザーを使った結晶核の発生も試みたが (後述)¹⁴⁾、最終的には、丸和栄養食品(株)の伊中・杉山らが開発した過去の結晶化論文を集めたデータベースの検索により、クエン酸ナトリウムが沈殿剤として有望であることが判明し、再現性よく結晶が得られた。大型放射光施設 SPring-8 BL12B2 にて 100 K の低温下、 $2.1 \text{ \AA}$ 分解能までの X 線回折強度データの収集を行った。ブタのアルドース還元酵素の構造 (1AH3, 41% の identity) をモデルとした分子置換法により構造解析を行い、 $2.1 \text{ \AA}$ 分解能での精密構造を得た。解析の結果、アルドケト還元酵素 (AKR) スーパーファミリーに属する他の酵素と同じ $(\alpha/\beta)_8$ パレル構造をもち、 β パレルの C 末端側に $NADP^+$ と結晶化に用いた硫酸イオンも

Fig. 9

Complex structures with the HQL-79 derivatives; C = 3 (left) and C = 4 (right). (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

しくはクエン酸イオンが結合していた (**Fig. 10**).

4.2 TbPGFS の反応機構予測

次に, プログラム CNS のエネルギー最小化計算を用い¹⁵⁾, 基質 PGH_2 の結合予想モデルを構築した. その結果, 基質の 9,11-エンドペルオキシド結合のあるシクロペンタン環が, NADP^+ のニコチンアミド環の C4 位および His110 に相互作用できる位置に存在した (**Fig. 11**). この複合体構造のモデルは, 基質類似物の阻害率の活性測定によっても正しいことが確認された.

AKR の活性中心には, Asp, Tyr, Lys, His の4つのアミノ酸残基からなる catalytic tetrad が保存され, どの

Fig. 10

Schematic drawing of TbPGFS. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

アミノ酸が欠損しても失活する. しかし, TbPGFS にもこれら4つのアミノ酸残基が保存されているが, **Fig. 12** のように, Tyr52 および Asp47 を欠損させても失活しなかった. また, K77L の変異体は失活したものの, 同じ塩基性残基である Arg に変えると活性が復活した. この Lys77 について K77L/H110A および K77L/D47N の二重変異体についても, また, K77L/H110A/Y52F の三重変異体についても, K77L の変異を含む変異体は失活した. 一方, His110 については, H110F 変異体は失活したが, H110A 変異体は酵素活性が戻った (**Fig. 12**).

基質 PGH_2 との複合体の予測構造から, Lys77 は 9,11-エンドペルオキシドまでの距離が約 6.8 Å と遠いが, His110 は 3.3 Å と近く, His110 がプロトンソースとして機能し, Lys77 は NADPH を安定化すると予想された (**Fig. 13**).

His110 の 8 位の窒素原子には水分子が水素結合し, 溶媒チャンネルへと続いており, H110A の変異体では, イミダゾール環に入れ替わって水分子が入り込み, プロトンソースとなった可能性がある. 一方, D47N の変異体で NADPH との結合定数が大きくなった事実から, Asp47 は NADPH の安定化に寄与するが, Lys77 はその Asp47 を介して NADPH の結合解離に関与すると考えられる. また, Lys77 は, His110 と静電反発することで His110 の位置を安定化し, 基質との相互作用が起こりやすくなる可能性が示唆された.

4.3 TbPGFS の阻害剤開発

PGF 合成酵素の反応機構は, これまで AKR スー

Fig. 11

Proposed structure of TbPGFS complexed with PGH₂. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

パーファミリーに属する酵素群のうち 1C3 サブファミリーに属する酵素についての研究結果を中心に考えられ、AKR の catalytic tetrad による反応機構をベースにして、Tyr も含めた反応機構が提唱されていた¹⁶⁾。AKR1C3 に含まれる酵素は、PGD₂ や PGE₂ も基質とするので、この点でも PGH₂ のみを基質とする TbPGFS とは反応機構が異なる^{17), 18)}。今回われわれは、Lys77 と His110 の catalytic dyad が酸触媒として作用し、NADPH から PGH₂ へのヒドリドイオンの攻撃を可能にするという新しい反応様式を提唱した。この反応機構は AKR1B のサブファミリーに属するヒトの胎盤由来の PGF 合成酵素を使った変異実験でも再確認され (未発表)、同様の反応機構をもつ酵素群が続々と見つかる。さらに、TbPGFS (2000 nm/min/mg) と

Fig. 12

Activities of mutant TbPGFS.

AKR1B クラスの PGF 合成酵素 (約 50 nm/min/mg) の酵素活性を比較すればわかるとおり、反応機構を共通にしながらも TbPGFS の反応性が圧倒的に高いことも判明した。この反応性の差は、触媒部位の構造の差に由来すると考えられるので、ヒト由来 PGFS とは感受性の異なる、TbPGFS に特異的な阻害剤の開発も可能であると考えている。

これまでの検討では、TbPGFS の阻害剤として Tolrestat とよばれる糖尿病の治療薬がわずかながら TbPGFS を阻害することが判明し、複合体結晶の調製と X 線結晶構造解析を進めている。しかし、沈殿剤であるクエン酸が TbPGFS の活性部位に結合し、結晶化に用いる高濃度のクエン酸存在下では Tolrestat の複合体結晶を調製することが困難である。そこで、他の沈殿剤を使った結晶化を行い、引き続き阻害剤複合体の解析を行う予定である。

5.

おわりに

今回、H-PGDS に関しては、グラナダ大学が開発し

Fig. 13

Proposed reaction mechanism of TbPGFS. (カラー図は電子ジャーナル<http://www.jstage.jst.go.jp/browse/biophys/>参照)

た Granada crystallization box (GCB) 法^{9),10)}による結晶化を宇宙空間で試すことによって飛躍的に結晶の質が改善され、構造解析の精度が向上した。一方、Tb-PGFSの結晶化に際しては、当初硫酸を使った結晶化では再現性がきわめて悪く、核発生に数ヵ月を要したものが、レーザーの照射によりわずか3日程度で核発生に成功し、微結晶を得た¹⁴⁾。レーザー照射技術と攪拌技術の組み合わせなどで高品質結晶を効率良く得る結晶化プロジェクト(「創晶プロジェクト」(<http://www.so-sho.jp>))も進行しているが¹⁹⁾⁻²²⁾、今回はデータベース検索による新たな結晶化技術により研究が加速した。これら結晶化技術がさらに充実し、種々のタンパク質のX線構造を利用した阻害剤の開発が常套手段となる日も近いと期待している。

謝 辞

本研究は、さきがけ研究、たんぱく3000プロジェクト、宇宙環境利用機構応用化研究によってサポートされ、丸和栄養食品(株)の伊中浩治博士、杉山成博士はじめ多くの方々の支援により推進された。この場をお借りして深く感謝申し上げます。

文 献

- Urade, Y. and Hayaishi, O. (2000) *Biochim. Biophys. Acta* **1482**, 259-271.
- Lewis, R. A., Soter, N. A., Diamond, P. T., Austen, K. F., Oates, J. A. and Roberts, L. J., 2nd (1982) *J. Immunol.* **129**, 1627-1631.
- Matsuoka, T., Hirata, M., Tanaka, H., Takahashi, Y., Murata, T., Kabashima, K., Sugimoto, Y., Kobayashi, T., Ushikubi, F., Aze, Y., Eguchi, N., Urade, Y., Yoshida, N., Kimura, K., Mizoguchi, A., Honda, Y., Nagai, H. and Narumiya, S. (2000) *Science* **287**, 2013-2017.
- Bygdeman, M., Kwon, S. U., Mukherjee, T., Roth-Brandel, U. and Wikqvist, N. (1970) *Am. J. Obstet. Gynecol.* **106**, 567-572.
- Fujitani, Y., Kanaoka, Y., Aritake, K., Uodome, N., Okazaki-Hatake, K. and Urade, Y. (2002) *J. Immunol.* **168**, 443-449.
- Kanaoka, Y., Ago, H., Inagaki, E., Nanayama, T., Miyano, M., Kikuno, R., Fujii, Y., Eguchi, N., Toh, H., Urade, Y. and Hayaishi, O. (1997) *Cell* **90**, 1085-1095.
- Pinzar, E., Miyano, M., Kanaoka, Y., Urade, Y. and Hayaishi, O. (2000) *J. Biol. Chem.* **275**, 31239-31244.
- Inoue, T., Irikura, D., Okazaki, N., Kinugasa, S., Matsumura, H., Uodome, N., Yamamoto, M., Kumasaka, T., Miyano, M., Kai, Y. and Urade, Y. (2003) *Nature Struct. Biol.* **10**, 291-296.
- Garcia-Ruiz, J. M., Gonzalez-Ramirez, L. A., Gavira, J. A. and Otalora, F. (2002) *Acta Cryst. D* **58**, 1638-1642.
- Garcia-Ruiz, J. M. and Moreno, A. (1994) *Acta Cryst. D* **50**, 484-490.
- Inoue, T., Okano, Y., Kado, Y., Aritake, K., Irikura, D., Uodome, N., Okazaki, N., Kinugasa, S., Shishitani, H., Matsumura, H., Kai, Y. and Urade, Y. (2004) *J. Biochem.* **135**, 279-283.
- Aritake, K., Kado, Y., Inoue, T., Miyano, M. and Urade, Y. (2006) *J. Biol. Chem.*, in press.
- Okano, Y., Inoue, T., Kubata, B. K., Kabututu, Z., Urade, Y., Matsumura, H. and Kai, Y. (2002) *J. Biochem. (Tokyo)* **132**, 859-861.
- Adachi, H., Takano, K., Hosokawa, Y., Inoue, T., Mori, Y., Matsumura, H., Yoshimura, M., Tsunaka, Y., Morikawa, M., Kanaya, S., Masuhara, H., Kai, Y. and Sasaki, T. (2003) *Jpn. J. Appl. Phys.* **42**, L798-L800.
- Brunker, A. T., Adams, P. D., Clore, G. M., DeLano, W. L., Gros, P., Grosse-Kunstleve, R. W., Jiang, J. S., Kuszewski, J., Nilges, M., Pannu, N. S., Read, R. J., Rice, L. M., Simonson, T. and Warren, G. L. (1998) *Acta Cryst. D* **54** (Pt 5), 905-921.
- Suzuki, T., Fujii, Y., Miyano, M., Chen, L. Y., Takahashi, T. and Watanabe, K. (1999) *J. Biol. Chem.* **274**, 241-248.
- Yamamoto, S. (1983) .
- Wintergalen, N., Thole, H. H., Galla, H. J. and Schlegel, W. (1995) *Eur. J. Biochem.* **234**, 264-270.
- Adachi, H., Matsumura, H., Takano, K., Niino, A., Inoue, T., Yoshimura, M., Mori, Y. and Sasaki, T. (2003) *Jpn. J. Appl. Phys.* **42**, L1161-L1163.
- Adachi, H., Takano, K., Yoshimura, M., Mori, Y. and Sasaki, T. (2002) *Jpn. J. Appl. Phys.* **41**, L1025-L1027.
- Adachi, H., Takano, K., Yoshimura, M., Mori, Y. and Sasaki, T. (2003) *Jpn. J. Appl. Phys.* **42**, L314-L315.
- Adachi, H., Takano, K., Morikawa, M., Kanaya, S., Yoshimura, M., Mori, Y. and Sasaki, T. (2003) *Acta Cryst. D* **59**, 194-196.

井上 豪

井上 豪 (いのうえ つよし)

大阪大学大学院工学研究科物質化学専攻助教授
工学博士, 1989年大阪大学工学部卒, 94年大阪大学大学院工学研究科博士課程修了, 同年大阪大学工学部助手, 99年講師を経て, 2002年より現職。

研究内容: ブルー銅タンパク質とプロスタグランジン合成酵素の構造機能相関に関する研究およびタンパク質の良質結晶を作製する「創晶プロジェクト」に参画。

連絡先: 〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-1

E-mail: inouet@chem.eng.osaka-u.ac.jp

URL: <http://www.chem.eng.osaka-u.ac.jp/~kaiken>

裏出良博 (うらで よしひろ)

(財)大阪バイオサイエンス研究所分子行動生物学部門部長

1982年京都大学大学院医学研究科博士課程単位取得後退学, 83年博士号取得(医学博士), 同年日本学術振興会奨励研究員, 88年米国ロッシュ分子生物学研究所客員研究員, 90年日本チバガイギー国際科学研究所主任研究員, 93年(財)大阪バイオサイエンス研究所研究副部長を経て, 98年より現職。

研究内容: プロスタグランジンの分子機構の解明

連絡先: 〒565-0874 大阪府吹田市古江台 6-2-4

E-mail: uradey@obi.or.jp

URL: <http://www105.sakura.ne.jp/~obi2dept/jp/researcher/Urade-J.html>