アスパラギン合成酵素の結晶構造： II型アミノアシル-tRNA合成酵素との進化上の関係

京都大学化学研究所 中津 亨

Toru NAKATSU: Crystal Structure of Asparagine Synthetase -Evolutional Relationship to Class II Aminoacyl-tRNA Synthetase

The crystal structure of *Escherichia coli* asparagine synthetase has been determined by X-ray diffraction analysis. The overall structure of the enzyme is remarkably similar to that of the catalytic domain of yeast aspartyl-tRNA synthetase despite low sequence similarity (11%). These enzymes have a common reaction mechanism that implies the formation of an aminoacyl-adenylate intermediate. The active site architecture and most of the catalytic residues are also conserved in both enzymes. These proteins have probably evolved from a common ancestor even though their sequence similarities are small.

1. はじめに

生体内にはATP（アデノシン5'-3リン酸）がADP（アデノシン5'-2リン酸）またはAMP（アデノシン5'-1リン酸）に分解されるときに放出されるエネルギーを利用する反応を触媒しているタンパク質が多数存在する。その中の1つに、酵素の分類上EC6群に分類されるリガーゼとよばれるタンパク質群がある。本稿ではそのリガーゼのうちの1つであるアスパラギン合成酵素を題材として用い、その立体構造から基質分子の認識機構や、タンパク質の分子進化について述べたいと思う。

アスパラギン合成酵素はアスパラギン酸からアスパラギンを合成する酵素であるが、その際の窒素源としてアンモニアを利用するAsnAとグルタミンを利用するAsnBの2種類が存在する。¹⁾ その際、両酵素ともATPからAMPとピロリン酸への分解を伴って反応が進行する。アンモニアを窒素源として利用するAsnA²⁾は原核生物だけに存在するが、グルタミンを使用するAsnB^{3), 4)}は原核生物にも真核生物にも存在している。大腸菌由来のアスパラギン合成酵素については両方のアミノ酸配列が明らかになっている。それによると、AsnAは330アミノ酸、⁵⁾ AsnBについては554アミノ酸⁶⁾から構成されている。しかし両酵素間でアミノ酸配列の相同性は見いだされていない。またヒトのAsnBのアミノ酸配列も明らかになっており、大腸菌とヒトのAsnBのアミノ酸配列の相同性は37%であった。⁶⁾ さらに、AsnBについては、アミノ酸配列解析の結果からグルタミンアミドトランスフェラーゼ

ファミリーに属することもわかっていた。⁷⁾ 一方、AsnAについてはアミノ酸配列上相同性のあるタンパク質は見つかっていなかった。しかし1991年GattiらによりAsnAのC末端領域にアスパラギン酸tRNA合成酵素(AspRS)と相同性のある短いモチーフ(GGGIGxxR)が発見された。⁸⁾ AspRSはタンパク質の生合成の第1段階目の反応を行うアミノアシルtRNA合成酵素(aaRS)のうちの1つである。aaRSはアミノ酸をATPにより活性化し、そのアミノ酸に特異的に結合するトランスファーRNA(tRNA)の2'または3'位の水酸基と結合させる反応を触媒するリガーゼである⁹⁾ (AspRSは基質としてL-Asp, ATP, tRNA^{Asp}を利用する)。20種類存在するaaRSは、この反応点の違いにより2つに分類されており、¹⁰⁾ tRNAの2'位の水酸基と反応するものがI型、3'位と反応するものがII型と分類されている(ただしフェニルアラニンtRNA合成酵素(PheRS)は2'位と結合を形成するがII型に分類される)。それによるとAspRSはII型aaRSに属する。これまでの結果から、aaRSの触媒活性ドメインの構造はI型とII型では異なっている。すなわち、I型aaRSはロスマンフォールド、II型aaRSは逆平行β-シート構造を形成している。¹¹⁾ そしてAsnAとの相同性が見られた短いモチーフはII型の共通のモチーフとして知られていた。

AsnAはAspRSと何らかの関係があることが示唆されたものの、両酵素にどのような進化的な関係があるのかということは、この段階ではよくわからなかった。またAsnAについて、詳細な基質認識および反応機構も不明であった。そこでこれらの不明な点を明らかにすることを

目的として、大腸菌由来のアスパラギン合成酵素のX線結晶構造解析を行った。

2. X線結晶構造解析

大腸菌由来のAsnAのX線結晶構造解析を行うために、まず野生型酵素を用いて結晶化を行った。しかし、さまざまな結晶化条件について検討したが、沈殿剤として硫酸アンモニウムを使用したときに針状結晶が得られただけであり、それはX線結晶構造解析を行うには不十分な結晶であった。

AsnAは330アミノ酸残基中Cys残基が2ヶ所(Cys 51, Cys 315)存在するが、これらの残基はS-S結合は形成しておらず、還元状態にある。またAsnAを長時間放っておくとその酵素活性は低下するが、 β -メルカプトエタノールのような還元試薬を用いて還元すると、その酵素活性が回復することがわかっている。²⁾そこで還元状態にある野生型のAsnAと、強制的に酸化させた野生型のAsnAを、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を用いてその状態の比較を行った。その結果、酸化型の野生型AsnAでは、サブユニット間でS-S結合を形成していることを示すバンドが表れた。そこで酸化を受ける残基を同定するためにCys残基をAla残基に変異させた3種類の変異型酵素(Cys51Ala, Cys315Ala, Cys-free (Cys51Ala/Cys315Ala))を作成し、これらの変異型酵素を強制的に酸化させてSDS-PAGEを行ったところ、Cys315Ala変異体は野生型と同様、酸化されたが、Cys51Ala, Cys-free変異体では酸化を受けなかった。すなわち酸化に関わる残基はCys51であることがわかった。

さらに通常の溶液状態において野生型および3種類の変異型のAsnAがどのような状態にあるのかを明らかにするために還元状態でのNative-PAGEを行った。その結果、Cys315Ala, Cys-free変異体では1本のバンドしか見られなかった。しかし野生型とCys51Ala変異体では2本のバンドが見られ、これらには2つの異なる分子種が存在することが判明した。この結果から、Cys315は溶液中において不均一性を導く残基であることがわかった。

結晶化を成功させるためには、目的とするタンパク質の均一性が高く、結晶化を行っている最中にその状態が変化しないことが重要である。AsnAの場合、Cys51は酸化を受けやすく、Cys315の存在は溶液中での不均一性を導くことから、これらの影響が表れてこないCys-free変異型AsnAを結晶化に使用した。その結果、沈殿剤として硫酸アンモニウムを使用し、生成物であるL-Asnを共結晶化したときに構造解析が可能な板状の結晶を得ることができた。得られた結晶の空間群は $P2_1$ 、格子定数は $a = 52.9 \text{ \AA}$, $b = 126.2 \text{ \AA}$, $c = 52.8 \text{ \AA}$, $\beta = 105.3^\circ$ であった。また非対称単位中には2サブユニットが含まれていた。¹²⁾

構造解析は $\text{Sm}_2(\text{SO}_4)_3$ と $\text{K}_2\text{Pt}(\text{CN})_4$ を用いた多重同型

置換法により行い、このときのX線回折強度データはRIGAKU社のR-Axis IIcにより収集した。位相決定はプログラムPHASES¹³⁾により行い、さらに溶媒平滑化法¹⁴⁾および非結晶学的な2回軸による分子の平均化¹⁵⁾を用いて位相の改良を行った。その結果、主鎖のトレースが容易にできる電子密度図が得られ、この電子密度図を基にしてTURBO-FRODO¹⁷⁾上で分子モデルの構築を行った。このときN末端側3残基を除いた327残基からなるモデルを作成した。その後、プログラムX-PLOR¹⁸⁾によりモデルの精密化を行い、 $R = 19.4\%$ ($R_{\text{free}} = 24.4\%$)の構造が得られた。¹⁹⁾

3. アスパラギン合成酵素の立体構造

AsnAのサブユニットの構造は図1に示したように1つのドメインで構成されていた。中央部分に8本からなる β シート構造が存在し、真ん中の6本は逆平行 β シート構造であった。この β シートを支えるように、それぞれ約25残基からなる2本の α ヘリックスが存在し、残りの9本の α ヘリックスが取り巻くように存在している。今回得られた構造は生成物であるアスパラギンとの複合体であったことから、その結合位置が判別でき、図1のようにこの β シートにアスパラギンが乗りかかるように位置していた。またこの β シートから少し突出するように3本の β 鎖からなる逆平行 β シートが存在していた。全体構造は2量体(図1)として存在しており、両サブユニットの $\beta 2$ - $\beta 4$ により、6本鎖の逆平行 β シートが形成されていた。さらに両サブユニットの $\alpha 1$ ヘリックスも2量体形成に関与していた。

結晶化の際、重要となったAla51(野生型ではCys)は $\beta 2$ と $\beta 3$ の間に位置し、非常に溶媒領域に露出した部分にあることがわかり、酸化を受けやすい位置に存在していた。またAla315(野生型ではCys)は $\alpha 10$ と $\alpha 11$ の間に存在し、異なるサブユニットのAla34, Pro35, Ile36と近い位置に存在し、2量体間の疎水性相互作用に関与していると考えられる。またCys315Ala変異体は1つの分子種になり、またATPに対する結合が弱くなるという性質があることから、Cys315は2量体間の相互作用を強めたり弱めたりする作用を持つため、2つの分子種が存在するのであろうと考えられた(未発表データ)。

4. アスパラギン合成酵素とアスパラギン酸tRNA合成酵素の立体構造の比較

AsnAの構造は、これまでに構造解析されたタンパク質の中でII型のアミノアシルtRNA合成酵素(aaRS)の触媒反応ドメインに非常によく似ていた。その中でも特に酵母由来のアスパラギン酸tRNA合成酵素(AspRS)²⁰⁾の触媒反応ドメインによく似ていた。AspRSは図2に示したようにtRNA結合ドメインと触媒反応ドメインの2つ

図1 大腸菌由来 AsnA の (a) サブユニット構造と (b) 全体構造. リガンドであるアスパラギンは ball & stick モデルで示した. ((a) Subunit structure and (b) overall structure of AsnA from *E. coli*.)

図2 酵母由来 AspRS の (a) サブユニット構造と (b) 全体構造. ((a) Subunit structure and (b) overall structure of AspRS from *S. cerevisiae*.)

から構成されている。そして AspRS も AsnA と同様に 2 量体 (図 2) として存在しており、その形成の仕方についても非常によく似ていた。両酵素の触媒反応ドメインのトポロジーはほとんど同じで、その違いは AsnA には AspRS の $\alpha 3a$ に相当するヘリックス、AspRS では AsnA の $\alpha 7$ と $\alpha 11$ に相当するヘリックスが見られないということだけであった。そこで両酵素の立体構造を重ね合わせ、相対する部分 (175 アミノ酸残基) の C α 原子間の r. m. s. d を計算したところ、1.9 Å であった。

両酵素のアミノ酸配列上の相同性は約 11 % であるにもかかわらず、その立体構造に関しては、2 次構造、3 次構造、そして 4 次構造に至るまで非常によく似ていた。そこで両酵素のアミノ酸配列を 2 次構造に基づいて並べてみたところ (図 3)、AspRS において立体構造形成上重要な残基、もしくは触媒作用に関わっている残基²¹⁾ が AsnA においても保存されていることが判明した。Pro35 は両酵素とも 2 量体形成を行う際の相互作用に重要な残基である。AspRS において、この Pro 残基を Gly 残基に変異させた実験ではサブユニット間の水素結合がなくなるため、酵素活性がなくなる²²⁾ という実験結果が得られている。またアミノ酸配列解析からも指摘されていた²⁹²GGGIG²⁹⁶ という配列は両酵素とも $\beta 11$ 鎖上に共通してみられた。

この付近は両酵素とも基質結合領域であり、AspRS において Gly526 と Gly528 を Ala 残基に変異させると、基質である L-Asp と ATP に対する結合能が非常に弱くなる²¹⁾ という実験結果が得られていることから、これらの残基が Gly である必要性が示唆されている。

その他の保存されていた残基は AspRS において基質認識および触媒反応に関わる残基である。Lys77, Glu120, Arg255 に相当する AspRS の残基は水素結合ネットワークを形成し、基質である L-Asp の β -カルボキシル基の認識に関与している。さらに Asp118 に相当する残基はアミノ基の認識に関与しているとされている。Arg100 および Arg299 はそれぞれ ATP の α および γ 位のリン酸の認識を行い、その触媒活性に重要な役割を担っており、これらの残基はすべての II 型 aaRS において保存されている残基である。また Asp235, Glu248, Ser251 についても ATP のリン酸の認識に対して重要な残基である。

さらに両酵素は反応機構という観点からも非常によく似ている。図 4 に示すように両酵素は共通の基質として L-Asp と ATP を利用し、アスパルチルアデニレートを経る中間体とする 2 段階の同じ反応機構で進行すると考えられている。この様に共通した基質並びに反応機構を両酵素が保っているということは、両酵素間の活性アミノ酸残

図 3 立体構造に基づいた大腸菌由来 AsnA と酵母由来 AspRS の触媒ドメインのアミノ酸配列の比較。2 次構造は AsnA のものを示している。立体構造上重要な残基または酵素活性上重要な残基の中で保存されている残基を四角の中に示した。(Structurally based sequence alignment of AsnA from *E. coli* and AspRS from *S. cerevisiae*.)

図4 AsnAとAspRSの反応機構の模式図。(Schematic drawing of the reaction mechanism of AsnA and AspRS.)

基や立体構造の保持を結びつけるものであると推察できる。しかし両酵素とも反応の第1段階目の基質としてはL-AspとATPを使用しているものの、ATPと反応するL-Aspのカルボキシル基の反応点が異なっている。すなわちAsnAでは β 位、AspRSでは α 位のカルボキシル基が反応するために、中間体の構造もそれぞれ β -および α -アスパルチルアデニレート形成する。また3つ目の基質はそれぞれアンモニアとtRNAといった大きさや性質の異なるものであった。これらのことは両酵素が独自の基質特異性を獲得するために、アミノ酸配列の相同性が見失われるほどの変異が導入された原因と考えられる。

5. アスパラギン合成酵素：L-Asn：AMP複合体の結晶構造

AsnAとAspRSの立体構造に基づいたアミノ酸配列の比較からAsnAの活性残基が推定されたが、これらの残基の役割を同定し、さらに詳細な情報を得るためにAsnA：L-Asn：AMP複合体の構造を2.2 Å分解能で決定した。¹⁹⁾ その結果、図5に示すような結合様式をしていることが判明した。AMPのアデニン環の認識にはVal114とArg299の側鎖部分が疎水結合を形成することによりその結合性を高めていると考えられた。AsnAのATPに対する K_m が1.2 mMであるのに対し、AspRSでは0.03 mMであり、ATPとの結合能が約40倍強い。これはアデニン環を認識している残基がAsnAではValであるが、AspRSではPheであることから、アデニン環との相互作用がより強くなるためであると考えられる。Arg100とSer251は α 位のリン酸部分の認識に関与しており、特にArg100は α 位の位置の決定とリン原子の求電子性を高めるとともに反応の過程で生じる5配位中間体の安定性に寄与していることが示唆された。一方、L-AsnのまわりにはAsp46、Lys77、Gln116、Asp118、Glu120、Asp219、Arg255が水素結合や塩橋を通して相互作用することによって、その認識に関与

図5 アスパラギン合成酵素：L-Asn:AMP複合体結晶の活性部位におけるリガンドとアミノ酸残基との結合様式の模式図。波線は疎水性相互作用、点線は水素結合を示している。(Schematic drawing of the interaction of the ligands and the residues of protein in the catalytic region of AsnA:L-Asn:AMP structure.)

している。Lys77、Glu120、Arg255は水素結合によるネットワークを形成しカルボキシル基と、またAsp219は水を介してアミノ基と結合可能な位置に存在している。またカルバモイル基の認識についてはGln116の側鎖が酸素原子、またAsp46の側鎖が窒素原子の近傍に位置していた。

図6 AsnA と AspRS の活性アミノ酸残基の重ね合わせ図. AsnA 及び AspRS のモデルはそれぞれグレー色及び黒色で表した. また上段の残基名は AsnA, 下段の残基名は AspRS を示している. (Superposition of the catalytic residues between AsnA from *E. coli* and AspRS from *S. cerevisiae*.)

このことから3つ目の基質であるアンモニアの認識に関与しているのは Asp46 であると推定できた.

この結果, 立体構造によるアミノ酸配列の比較から指摘されたアミノ酸残基は, AsnA において酵素活性に重要な残基であることが判明した. また活性部位のアミノ酸残基を両酵素で重ね合わせてみたところ, 図6のように非常によく一致していた.

6. アスパラギン酸の認識機構

AsnA と AspRS における特徴的な違いは, 基質である L-Asp の ATP に対する反応点の違い, すなわち L-Asp の認識機構の違いである. AsnA については L-Asn : AMP 複合体,¹⁹⁾ AspRS については α -アスパルチルアデニレート中間体²¹⁾ の立体構造から L-Asp の結合様式を推定した (図7). AsnA では L-Asp の β -カルボキシル基は Gln116 と, アミノ基は Asp219 の側鎖が水を介して結合していた. また AspRS では L-Asp の β -カルボキシル基が Gln303 と, アミノ基は Asp342 が結合していた. すなわち両酵素とも L-Asp を認識する上で Gln 残基と Asp 残基が必須であった. 立体構造に基づいたアミノ酸配列比較 (図3) や活性部位の重ね合わせ (図6) から, AspRS の Asp342 に相当する残基は AsnA では Asp118 であり, 同じ位置に同じ残基が存在していた. しかし, これらの残基の役割は

図7 AsnA と AspRS のアスパラギン酸の結合様式の比較の模式図. アスパラギン酸のカルボキシル基とアミノ基を認識しているグルタミン残基とアスパラギン酸残基は四角で囲んで示した. (Schematic drawing of the substrate L-Asp binding site of AsnA and AspRS.)

異なっており, AsnA では Gln116 と Lys77 の位置を決定する働きをする残基であると考えられる. これ以外の残基については, AspRS の Gln303 は AsnA では Ala74, AsnA の Asp219, Gln116 は AspRS ではそれぞれ Thr457, Gly340 となっており, まったく異なる残基になっていた. 両酵素において, Gln 残基と Asp 残基は同じ働きをしているものの, それらの構造上の位置が異なっていることから, L-Asp に対して違った基質認識機構が実現されたと考えられる.

7. アスパラギン合成酵素とアスパラギン酸 tRNA 合成酵素の進化上の関係

大腸菌由来の AsnA と同様, 原核生物に属する AspRS (*n*) の立体構造²³⁾ についてもすでに明らかになっている. この酵素の触媒反応ドメインは, AsnA の図1にある $\alpha 4$ と $\alpha 5$ の間に小さなドメインが存在し, AsnA や酵母由来の AspRS にはない性質を備えている. また AsnA と相当する部分の立体構造は似ているものの, 活性部位の残基でわずかに違いがみられる. Ser251 に相当する残基は高度好熱菌の AspRS では Gly になっており, その代わりに異なった位置にある His が同様の役割をおこなっている. またモチーフ (²⁹²GGGIG²⁹⁶) の部分でも Gly293, Gly294, Ile295 に相当する部分がそれぞれ Ile, Ala, Trp になっており, 基質認識部位の構造が微妙に違っていると考えられる. このような高度好熱菌の性質は原核生物の AspRS に保存されていることから, 大腸菌由来の AsnA は同じ原核生物の AspRS よりもむしろ真核生物の AspRS により似ていることになる.

最近, 古細菌 (*Pyrococcus kodakaraensis*) の AspRS についても立体構造²⁴⁾ が明らかになった. この酵素については, 触媒反応ドメインは真核生物, tRNA 結合ドメインは原核生物に似ているといった特徴を備えており, AspRS

の分子進化上、原核生物と真核生物の間に位置するものと考えられている。また酵母と *Pyrococcus kodakaraensis* の AspRS の活性アミノ酸残基についてはほとんどが共通していた。しかし酵母由来の AspRS においてアデニン環を認識する際に重要である Phe 残基は、*Pyrococcus kodakaraensis* 由来の AspRS では Ala 残基になっていた。古細菌の AspRS では、この残基は芳香族環を持たない小さな疎水性残基 (Ala, Val, Ile) で保存されている。大腸菌由来の AsnA のこれに相当する残基は Val114 であった。原核生物由来の AsnA のアミノ酸配列はこれまでに3種類が明らかになっているが、これらすべてにおいて、これまでに述べてきた触媒作用に関わる AsnA のアミノ酸残基は保存されている。したがって原核生物の AsnA は真核生物の AspRS よりもむしろ古細菌の AspRS の性質に近いと考えられる。以上のことから、原核生物の AsnA は古細菌の AspRS と進化的に最も深い関係にあると考えられるのである。

以上の結果から以下のように考えられる。AsnA と AspRS は同じ反応機構を使ってその触媒反応を進行させるために、同じ立体構造骨格を持った祖先を利用し、その際立体構造を崩壊させることなく、必要な活性残基は保存しながら、それぞれの基質特異性を獲得するためにアミノ酸変異を加えながら進化したのではないだろうか。

8. おわりに

AsnA の立体構造を決定することにより、アミノ酸配列上は相同性が見られない AspRS が AsnA と非常に進化的に近いタンパク質同士であるということが判明した。すなわちタンパク質の分子進化的な関係を知るためには、アミノ酸配列は当然のこと、その立体構造や反応機構をも念頭に置いておくことの重要性がこの研究でより一層明らかとなったであろう。また AsnA と AspRS が立体構造的にも機能的にも非常によく似ているという結果から、分子進化について次のようなことが考えられる。進化の過程において、新しい酵素触媒機能を獲得するためには、ある反応機構を行うための立体構造骨格がまず選ばれ、その後アミノ酸変異を繰り返しながら、基質特異性を獲得し、それぞれ個々の機能を持ったタンパク質が進化する²⁵⁾のであろうということである。このことから考えると、もし立体構造が崩壊するような変異が加われば、そのタンパク質は淘汰されてしまうのであるから、たとえアミノ酸配列の相同性はなくとも立体構造は保存されるということは起こり得るのである。

本研究は京都大学化学研究所・小田順一教授(現福井県立大学)の指導のもと筆者が在学中に行ったものである。本研究を進めるにあたり、絶え間ないご指導をしてくださりました小田順一教授、加藤博章博士、そして小田研究室の皆様へ感謝いたします。

本研究の一部は科学研究費特別補助金(特別研究員奨励費)により行われた。

文 献

- 1) A. Meister: *The Enzymes*, **10**, 561, Academic Press (1974) .
- 2) H. Cedar and J.H. Schwartz: *J. Biol. Chem.* **244**, 4112 (1969) .
- 3) R. Humbert and R.D. Simoni: *J. Bacteriol.* **142**, 212 (1980) .
- 4) I.L. Andrulis, J. Chen and P.N. Ray: *Mol. Cell. Biol.* **7**, 2435 (1987) .
- 5) M. Nakamura, M. Yamada, Y. Hirota, K. Sugimoto, A. Oka and M. Takanami: *Nucleic Acids Res.* **9**, 4669 (1981) .
- 6) M.A. Scofield, W.S. Lewis and S.M. Schuster: *J. Biol. Chem.* **265**, 12895 (1990) .
- 7) H. Zalkin: *Adv. Enzymol. Relat. Areas Mol. Biol.* **66**, 203 (1993) .
- 8) D.L. Gatti and A. Tzagoloff: *J. Mol. Biol.* **218**, 557 (1991) .
- 9) P. Schimmel: *Annu. Rev. Biochem.* **56**, 125 (1987) .
- 10) G. Eriani, M. Deralue, O. Poch, J. Gangloff and D. Moras: *Nature (London)* **347**, 203 (1990) .
- 11) S. Cusack: *Nature Struct. Biol.* **2**, 82 (1995) .
- 12) T. Nakatsu, H. Kato and J. Oda: *Acta Crystallogr.* **D52**, 604 (1996) .
- 13) W. Furey and S. Swaminathan: *Meth. Enzymol.* **277**, 590 (1997) .
- 14) B.-C. Wang: *Meth. Enzymol.* **115**, 90 (1985) .
- 15) A.G.W. Leslie: *Acta Crystallogr.* **A43**, 134 (1987) .
- 16) G. Bricogne: *Acta Crystallogr.* **A32**, 832 (1976) .
- 17) A. Roussel and C. Cambillau: *TURBO-FRODO Manual AFMB-CNRS* (1996) .
- 18) A.T. Brünger: *X-PLOR version 3. 1: A system for x-ray crystallography and NMR*, Yale University press (1992) .
- 19) T. Nakatsu, H. Kato and J. Oda: *Nature Struct. Biol.* **5**, 15 (1998) .
- 20) M. Ruff, S. Krishnaswamy, M. Boeglin, A. Poterszman, A. Mitschler, A. Podjarny, B. Rees, J.C. Thierry and D. Moras: *Science* **252**, 1682 (1991) .
- 21) J. Cavarelli, G. Eriani, B. Rees, M. Ruff, M. Boeglin, A. Mitschler, J.-C. Thierry and D. Moras: *EMBO J.* **13**, 327 (1994) .
- 22) G. Eriani, J. Cavarelli, F. Martin, G. Dirheimer, D. Moras and J. Gangloff: *Proc. Natl. Acad. Sci.* **90**, 10816 (1993) .
- 23) A. Poterszman, M. Delarue, J.-C. Thierry and D. Moras: *J. Mol. Biol.* **244**, 158 (1994) .
- 24) E. Schmitt, L. Moulinier, S. Fujiwara, T. Imanaka, J. Thierry and D. Moras: *Embo J* **17**, 5227 (1998) .
- 25) G.A. Petsko, G.L. Kenyon, J. A. Gerlt, D. ringe and W. Kozarich: *Trends. Biochem. Sci.* **18**, 372 (1993) .

プロフィール

中津 亨 Toru NAKATSU
 京都大学 化学研究所
 〒611-0011 京都府宇治市五ヶ庄
 Tel. 0774-38-3232, Fax. 0774-38-3229
 e-mail: nakatsu@pcslp2.kuicr.kyoto-u.ac.jp
 最終学歴：京都大学大学院 農学研究科 博士後期
 課程修了 (1997年)
 専門分野：構造生物学
 現在の研究テーマ：ATPを利用するタンパク質
 の構造学的研究
 趣味：演劇鑑賞、スポーツ観戦