

「たんぱく質の構造・機能と発現メカニズム」

平成 15 年度採択研究代表者

藤田 禎三

(公) 福島県立医科大学医学部・教授

生体防御におけるたんぱく質間相互作用と機能発現機構の解析

## 1. 研究実施の概要

生体防御におけるたんぱく質間相互作用と機能発現機構の解析という課題の下で、二つのグループ(I:藤田、若宮、黒木グループ、II:住本、神田、伊藤グループ)がそれぞれ以下の通りの研究を行った。

### 1- I:藤田、若宮、黒木グループ

生体防御システムは、生命体に備わった基本的な特性であり、その生存の根幹を支えている。生体防御システムは自然免疫と獲得免疫からなるが、自然免疫は感染症や悪性腫瘍など多くの疾患の予防や治療において重要な機構である。その異物識別と排除の分子基盤は、当初の予想とは異なり、特異的で高度に発達したものであることが明らかになってきた。本研究では、レクチンを認識分子とする自然免疫の生体防御システムに焦点を絞り、レクチンによる非自己の認識、引き続き起こる異物排除までの応答と制御およびその生理的役割を明らかにすることを目的としている。

藤田グループは、マンノース結合レクチン(MBL)とフィコリン(ficolin)が認識分子として働く補体レクチン経路に焦点を絞り、その分子構成、作用機序および生理的役割の解明を目指してきた。これまでの解析により、認識分子である MBL とフィコリンに加えて、3種類の MASP と1種類の MASP 短縮型タンパク sMAP からなる高度に発達した経路であること、補体レクチン経路の機能低下は細菌やウイルスに対する易感染性の原因になること等を明らかにした。本年度は、MBL とフィコリンが結合するセリンプロテアーゼ MASP の機能を明らかにするために、MASP 欠損マウスの表現型解析とリコンビナント MASP 補充による再構成実験を進め、3種類の MASP の in vivo での役割と相互の関連性を明らかにした。とくに、補体レクチン経路と補体第二経路との密接な関連性を解明した。

若宮グループの研究目標は、膜型コレクチン CL-P1 の、エンドサイトーシスとファゴサイトーシス

に関わる分子の相互作用を明らかにし、個体における本分子の生理的意義を解明することである。これまでの研究で、膜型コレクチン CL-P1 を生理的に発現する血管内皮細胞では CL-P1 が酵母ファゴサイトーシスに重要な役目を行うこと、ゼブラフィッシュでは胎生初期で CL-P1 が血管形成に関与することが明らかになっている。本年度の研究では、CL-P1 強制発現細胞においては CL-P1 を介するエンドサイトーシスで、adaptin, clathrin が CL-P1 と共同で小分子の運搬に関わることを明らかにした。また、CL-P1 細胞内領域にあるチロシン領域は、ファゴサイトーシスには関わらないが、エンドサイトーシスに関与することを明らかにした。また、ゼブラフィッシュのノックダウン実験では、コラーゲン領域を欠損する部分 CL-P1 は形態回復能がないことより、コラーゲン領域が胎生期の血管形成に重要な役割を持つことが明らかになった。今後 CL-P1 の多様な生物現象を引き起こす内因性のリガンド探索を含めた詳細な解析を計画している。

黒木グループは、生体防御に関わる蛋白質として、分泌型コレクチンの肺サーファクタント蛋白質 A (SP-A) および D (SP-D) とマンノース結合レクチン (MBL)、および、Toll 様受容体 (TLR) とその関連蛋白質に焦点を絞り、その構造と機能の関係を明らかにすることを目的として研究を遂行している。これまでの研究により、コレクチンが TLR2 および 4 に CRD (糖鎖認識領域) を介して結合し、TLR 介在炎症を制御すること、食食受容体の細胞膜局在増強により細菌のマクロファージ食食を促進することを明らかにし、TLR4 の N 末端側 Glu24-Lys47 領域が MD-2 結合に必須であることを示してきた。本年度の研究では、SP-D が MD-2 にも結合し、リポ多糖惹起炎症反応を抑制することを明らかにし、また、TLR4 の N 型糖鎖付加と細胞表面発現に及ぼす MD-2 の役割についても解析している。

## 1- II : 住本、神田、伊藤グループ

本研究は、1 つには「食細胞における活性酸素生成の調節機構、即ち活性酸素生成型 NADPH オキシダーゼの活性化機構」について、特に「食細胞オキシダーゼの活性化とファゴサイトーシスをカップリングさせる機構、およびその調節機構」を細胞レベル・分子レベルで更には原子レベルで明らかにしようというものである。平成 19 年度は、特にファゴサイトーシス初期のファゴゾーム膜上での食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化について研究を行い、この過程に必要な分子間相互作用 (蛋白質-蛋白質相互作用および蛋白質-脂質相互作用) を明らかにした。その成果を踏まえて、平成 20 年度も更なる研究を展開したいと考えている。

また、本研究のもう一つの重要な課題は、食細胞以外に存在する活性酸素生成型 NADPH オキシダーゼ (Nox1, Nox3, Nox4 など) の機能と調節機構の解明である。私達は食細胞オキシダーゼの活性化蛋白質である p47<sup>phox</sup> および p67<sup>phox</sup> のそれぞれの新規ホモログ (Noxo1 および Noxa1) を同定・クローニングし、両者が Nox1 の活性化に必須であることを明らかにしていた。平成 19 年度は、Nox1 の活性化において Noxo1 がリン酸化により調節されていることを示した。また、低分子量 G 蛋白質 Rac が p67<sup>phox</sup> と結合することにより Nox3 活性化に関与すること、更に、この結合は p67<sup>phox</sup> の膜移行を誘導すること等を明らかにした。また、平成 20 年度も、これらのオキシダーゼの活性化機

構について更に解析を進める。

## 2. 研究実施内容

### 2- I :藤田、若宮、黒木グループ

#### 藤田グループ

3種類の MASP 欠損マウス(MASP-1/3 欠損マウス、MASP-2/sMAP 欠損マウスおよび MASP 完全欠損マウス)を作成し、その表現型を解析した。その結果、MASP 完全欠損マウスにおいてはレクチン経路の機能がほぼ完全に消失し、このことが細菌に対する易感染性を引き起こすことがわかった。また、MASP-1 は MASP-2 を活性化すること、MASP-2 は古典的経路の C1s に似ており、C2 と C4 を活性化し C3 転換酵素(C4b2a)を生成すること(図1)、MASP-2 の経路とは別に MASP-1/3 が C4 や C3 を活性化する経路があること、MASP-1/3 の経路は補体第二経路と深く結びついていること等がわかった。これまで第二経路の活性化は細菌などの異物表面で自然に起こるとされていたが、その概念が大きく修正される可能性がでてきた。

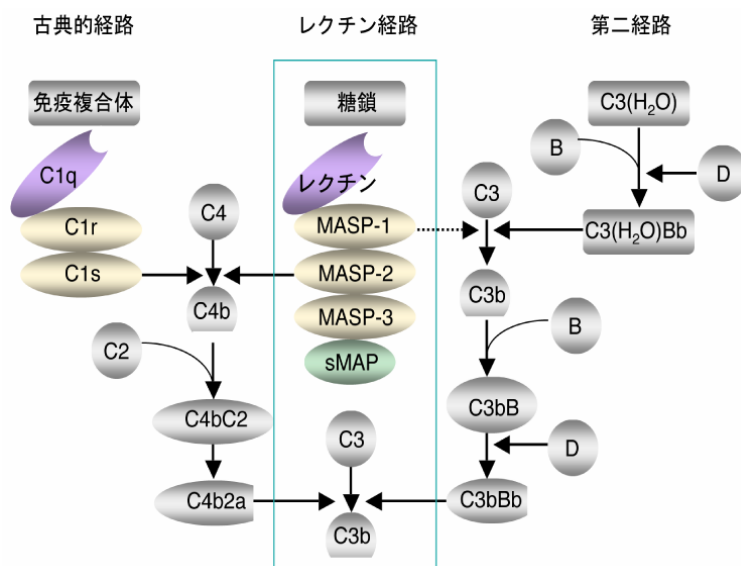


図1 3つの補体活性化経路による C3 活性化までのステップ

一方、レクチン経路の新たな認識分子であるフィコリンの役割を明らかにするために、フィコリン欠損マウスの表現型を解析してきた。昨年度までに、2つのマウスフィコリンのうち、フィコリン A は MBL と同じように細菌の感染防御に働くことを明らかにした。本年度は、フィコリン B の機能を明らかにするために、その欠損マウスを作成し表現型を調べた。発現場所である骨髄をはじめとする各種の組織や末梢血の血球数に明らかな異常は検出できなかった。本年度はフィコリン B 欠損マウスに加え、フィコリン A とフィコリン B の両者が欠損したフィコリン A/B ダブル欠損マウスも作成できたので、今後その表現

型も同時に解析しフィコリンの生理作用を解明する予定である。

### 若宮グループ

新規膜型コレクチン CL-P1 は、血管内皮に存在し、細胞レベルの実験から自然免疫やスカベンジャー受容体機能を有することが推測されている。本年度は CL-P1 発現 CHO 細胞における CL-P1 のエンドサイトーシス機能とゼブラフィッシュでのさらなる CL-P1 の機能解析を試み、個体レベルで新たな役割を見いだした。

#### 1. CL-P1 発現 CHO 細胞におけるエンドサイトーシス機能についての解析

CL-P1 発現 CHO 細胞における微生物や異物に対する結合には、コラーゲン領域が関与することが、ドメイン欠損 CL-P1 発現細胞におけるリガンド結合実験により明らかになった。異物に対する細胞の反応は、CL-P1 に結合する分子のサイズによって、大分子はファゴサイトーシス、小分子はエンドサイトーシスによって細胞内部に取り込まれる。CL-P1 発現 CHO 細胞において、CL-P1 結合分子である adaptin と clathrin の SiRNA 実験により、両分子が、変性 LDL や抗体などの CL-P1 特異リガンドのエンドサイトーシスに関与することが明らかになった。さらに、それらのエンドサイトーシスには、CL-P1 細胞内領域のチロシン領域のリン酸化が重要であり、このリン酸化はファゴサイトーシスには関与しないことが明らかになった。細胞膜に存在する CL-P1 分子は、マルチリガンドであるスカベンジャー受容体の機能を持ち、そのリガンドの分子サイズや結合状態によって、CL-P1 を介した細胞内のシグナル伝達を変えることにより、異なる機能を担う可能性が推測された。

#### 2. ゼブラフィッシュ CL-P1 遺伝子ノックダウンによる血管・形態形成についての解析

ゼブラフィッシュの血管形成に関わると考えられる因子の胎生発生における real time PCR 解析によって CL-P1 分子は心臓や血管形成時期に一致してその発現の亢進することが認められた。また、その発現パターンは、VEGF や VEGF 受容体とは異なり、独自のパターンを示すことが明らかになった。CL-P1 遺伝子ノックダウンによる表現型稚魚では、コラーゲン領域を欠損する部分 CL-P1 では形態回復が見られないことより、CL-P1 分子のコラーゲン領域が胎生期の血管形成に重要な役割を持つことが明らかになった。また、表現型出現稚魚では特に VEGF mRNA の低下が認められたが、VEGF mRNA 過剰投与にても十分な出現型回復は認めず、VEGF・VEGF 受容体系以外の血管発生の経路の可能性が推測された。

### 黒木グループ

肺コレクチンのうち SP-A は18量体の花束様構造を呈し、SP-D は12量体の十字架様構造を呈している。SP-A は、非リガンドの smooth LPS 惹起炎症反応を抑制するが、リガンドである rough LPS 惹起炎症反応に対しては抑制効果を示さない。今年度においては、SP-D が、SP-A と同様に、カルシウム依存性に sMD-2 (組換え可溶性 MD-2) に結合することを明らかにした。単クローン抗体による阻止実験および抗体のエピトープマッピングから、SP-D は糖鎖認識領域(CRD)を介して sMD-2 に結合することがわかった。さらに、Glycopeptidase F による糖鎖除去 sMD-2、および、N 型糖鎖付加に関わる Asn26 と Asn116 を Ala に変換した sMD-2 変異体にも、SP-D は結合したので、

SP-D は、MD-2 と蛋白間相互作用を介して結合すると考えられた。次に、SP-D の LPS 惹起炎症反応に対する効果を調べたところ、SP-A と違って、smooth LPS と rough LPS の両者に対して、抑制効果を示した。SP-D の N 末端側とコラーゲン様領域を SP-A と置換した SP-A/SP-D キメラ体では、SP-D のもつ rough LPS 惹起炎症抑制効果が著しく現弱しており、このことは SP-D の十字架様構造の重要性を示している。

TLR4 の細胞表面発現における MD-2 の役割については、一定の見解が得られていない。HEK293 細胞では、野生型 TLR4 は MD-2 非存在下でも細胞表面に局在することができる。N 型糖鎖の修飾を受けて 110 kDa と 130kDa の TLR4 が発現するが、レクチンブロット解析により、前者はハイマンノース型で、後者はコンプレックス型であることがわかった。細胞表面ビオチン化により、コンプレックス型の 130 kDaTLR4 のみが細胞表面に出現することがわかった。しかし、Cys88をAlaに変換した変異型 TLR4 単独では細胞表面への発現はなく、110 kDa のハイマンノース型糖鎖付加の TLR4 のみが発現した。MD-2 との同時トランスフェクションにより、初めてコンプレックス型糖鎖を有した 130 kDaTLR4 が発現し、細胞表面に局在した。以上の結果は、MD-2 が少なくとも変異型 TLR4 の細胞表面発現に必須であることを示しており、MD-2 が TLR4 を細胞表面局在に導く能力を有していることを示唆している。

## 2- II :住本、神田、伊藤グループ

(1) 食細胞 NADPH オキシダーゼの活性化とファゴサイトーシスをカップリングさせる機構について、生化学・分子細胞生物学的手法に加えて、構造生物学的解析により3次構造情報を得ながら、オキシダーゼの活性化の時間的空間的な全体像を明らかにしたいと考えている。平成 19 年度は、特に、「活性化型食細胞 NADPH オキシダーゼ複合体の形成機構」及び「活性化型食細胞 NADPH オキシダーゼ複合体のファゴゾームへの targeting の分子機構」に注目して研究を進めた。

(1-1) 活性化型食細胞 NADPH オキシダーゼ複合体の形成機構について:食細胞 NADPH オキシダーゼ活性化に必須の蛋白質である p47<sup>phox</sup> と p67<sup>phox</sup> の作用機構について、更に詳しい解析を行い、平成 19 年度は以下のような知見を得た。(i) 食細胞 NADPH オキシダーゼの酵素の本体は gp91<sup>phox</sup> (膜蛋白質) であるが、gp91<sup>phox</sup> は、NADPH から電子を受け取り、その電子を伝達して最終的に酸素分子に渡しスーパーオキシドを生成する。この電子伝達に必要なアミノ酸残基の同定に成功した。(ii) gp91<sup>phox</sup> は、やはり膜蛋白質である p22<sup>phox</sup> とヘテロダイマーを形成しているが、このヘテロダイマー形成に必要な領域を明らかにした。(iii) p47<sup>phox</sup> は gp91<sup>phox</sup> の活性化に必須の蛋白質であるが、p47<sup>phox</sup> と p22<sup>phox</sup> の相互作用が p47<sup>phox</sup> のファゴゾームへの targeting に必要であること、この過程には p47<sup>phox</sup> のリン酸化が必要であること等を明らかにした(論文準備中)。(iv) p67<sup>phox</sup> の N 末の SH3 ドメインは、gp91<sup>phox</sup> の活性化を増強する働きがあることを示した(論文準備中)。

(1-2) 活性化された食細胞 NADPH オキシダーゼのファゴゾームへの targeting の分子機構について: ファゴゾームへの targeting に重要な p40<sup>phox</sup> は N 末から、「PX-SH3-PB1」というドメイン構造をしている。平成 18 年度は、「p40<sup>phox</sup>-PX による PI3P 結合」が、PB1 ドメインが PX ドメインと分子内結合することによって調節されていることを明らかにしていた(Honbou et al. EMBO J., 2007)。平成

19年度は、PB1ドメインとPXドメインと分子内結合は、p40<sup>phox</sup>がファゴゾームのみにtargetされるために必要であることを示した(論文準備中)。

(2)本研究のもう一つの重要な課題は、食細胞以外に存在する活性酸素生成型 NADPH オキシダーゼ(Nox1, Nox3, Nox4 など)の機能と調節機構の解明である。私達は食細胞オキシダーゼの活性化蛋白質であるp47<sup>phox</sup>とp67<sup>phox</sup>のそれぞれの新規ホモログ(Noxo1とNoxa1)をクローニングしていたが、Noxo1及びNoxa1が、Nox1, Nox3, Nox4などの活性化において果す役割を明らかにする為に、Noxo1とNoxa1の種々の変異体蛋白質を作成し、これらを培養細胞系(COS-7細胞, HEK293細胞, CHO細胞, HeLa細胞, など)に発現させ、種々の解析を行っている。既に私達は、Nox1の活性化にはNoxo1とNoxa1の両者が必須であることを示していたが、平成19年度は、以下のことを明らかにした。

(2-1) Nox1について:平成18年度に、Nox1の活性化に必須のNoxo1は、分子内結合により負に調節されていることを示していた(Yamamoto et al. BBRC, 2007)。平成19年度は、細胞刺激時にNoxo1がリン酸化されること、このリン酸化によりNoxo1のこのフォメーション変化がおこり分子内結合が切断された結果、Noxo1とNox1およびNoxa1との相互作用が強化され、Nox1が活性化されることを示した(論文準備中)。また、RacはNox1の活性化にも関与することを明らかにしていたが、これにはRacのinsert regionは不要であることを示している(論文準備中)。

(2-2) Nox3について:平成19年度は、Rac1がNox3の活性化にも関与することを明らかにし、特に、p67<sup>phox</sup>存在下でのNox3活性化に重要な役割を果たすことを示すとともに、Rac1の作用はp67<sup>phox</sup>の膜移行を誘導することによるものであることを明らかにした(Miyano et al., Biochimie, 2007)。また、Rac2やRac3もNox3を活性化できることを明らかにしている(論文準備中)。

### 3. 研究実施体制

#### 3- I :藤田、若宮、黒木グループ

##### (1)「藤田禎三」グループ

①研究者名:藤田 禎三(福島県立医科大学)

②研究項目

- ・ 補体レクチン経路の分子機構の解析

##### (2)「若宮伸隆」グループ

①研究者名:若宮 伸隆(旭川医科大学)

②研究項目

- ・ 新規膜型コレクチンの機能解析

(3)「黒木由夫」グループ

①研究者名:黒木 由夫(札幌医科大学)

②研究項目

- ・分泌型コレクチンと Toll 様受容体による炎症制御とマクロファージ活性化機構

**3-Ⅱ:住本、神田、伊藤グループ**

(1)「生化学・分子生物学」グループ

①研究者名:住本 英樹(九州大学生体防御医学研究所)

②研究項目

- ・生化学・分子生物学・細胞生物学・発生工学的的手法による分子認識機構解明

(2)「構造生物学」グループ

①研究者名:神田 大輔(九州大学生体防御医学研究所)

②研究項目

- ・構造生物学的手法による分子認識機構解明

(3)「分子遺伝学」グループ

①研究者名:伊藤 隆司(東京大学大学院新領域創成科学研究科)

②研究項目

- ・分子遺伝学的手法による分子認識機構解明

**4. 研究成果の発表等**

(1) 論文発表(原著論文)

**藤田、若宮、黒木グループ**

1. Matsushima N, Tanaka T, Enkhbayar P, Mikami T, Taga M, Yamada K, Kuroki Y. Comparative sequence analysis of leucine-rich repeats (LRRs) within vertebrate toll-like receptors. *BMC Genomics*. 21;8:124 (2007)
2. Hisano S, Matsushita M, Fujita T, Takeshita M, Iwasaki H. Activation of the lectin complement pathway in post-streptococcal acute glomerulonephritis. *Pathol Int*. 57(6):351-357 (2007)
3. Endo Y, Matsushita M, Fujita T. Role of ficolin in innate immunity and its molecular basis. *Immunobiology*. 212(4-5):371-379 (2007)
4. Takahashi T, Wada I, Ohtsuka Y, Munakata M, Homma Y, Kuroki Y. Autoantibody to alanyl-tRNA synthetase in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Respirology*.

- 12(5): 642–653 (2007)
5. Takahashi M, Mori S, Shigeta S, Fujita T. Role of MBL-associated serine protease (MASP) on activation of the lectin complement pathway. *Adv Exp Med Biol.* 598:93–104 (2007)
  6. Garlatti V, Martin L, Gout E, Reiser JB, Fujita T, Arlaud GJ, Thielens NM, Gaboriaud C. Structural basis for innate immune sensing by M-ficolin and its control by a pH-dependent conformational switch. *J Biol Chem.* 282(49): 35814–35820 (2007)
  7. Unterberger C, Hanson S, Klingenhoff A, Oesterle D, Frankenberger M, Endo Y, Matsushita M, Fujita T, Schwaeble W, Weiss EH, Ziegler-Heitbrock L, Stover C. Stat3 is involved in control of MASP2 gene expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 364(4): 1022–1025 (2007)
  8. Ohhira M, Motomura W, Fukuda M, Yoshizaki T, Takahashi N, Tanno S, Wakamiya N, Kohgo Y, Kumei S, Okumura T. Lipopolysaccharide induces adipose differentiation-related protein expression and lipid accumulation in the liver through inhibition of fatty acid oxidation in mice. *J Gastroenterol.* 42(12):969–978 (2007)
  9. Aoyagi Y, Adderson EE, Rubens CE, Bohnsack JF, Min JG, Matsushita M, Fujita T, Okuwaki Y, Takahashi S. L-Ficolin/mannose-binding lectin-associated serine protease complexes bind to group B streptococci primarily through N-acetylneuraminic acid of capsular polysaccharide and activate the complement pathway. *Infect Immun.* 76(1):179–188 (2007)
  10. Motomura W, Yoshizaki T, Ohtani K, Okumura T, Fukuda M, Fukuzawa J, Mori K, Jang SJ, Nomura N, Yoshida I, Suzuki Y, Kohgo Y, Wakamiya, N. Immunolocalization of a novel collectin CL-K1 in murine tissues. *J Histochem Cytochem.* 56(3):243–252 (2008)

#### 住本、神田、伊藤グループ

1. Kuroki, K., Kobayashi, S., Shiroishi, M., Kajikawa, M., Okamoto, N., Kohda, D., and Maenaka, K.  
Detection of weak ligand interactions of leukocyte Ig-like receptor B1 by fluorescence correlation spectroscopy.  
*J Immunol Methods* 320, 172–176. 2007.
2. Ose, T., Soler, N., Rasubala, L., Kuroki, K., Kohda, D., Fourmy, D., Yoshizawa, S., and Maenaka, K.  
Structural basis for dynamic interdomain movement and RNA recognition of the selenocysteine-specific elongation factor SelB.  
*Structure* 15, 577–586. 2007.
3. Sasaki, K., Ose, T., Okamoto, N., Maenaka, K., Tanaka, T., Masai, H., Saito, M., Shirai, T., and Kohda, D.



- Structural basis of the 3'-end recognition of a leading strand in stalled replication forks by PriA.  
EMBO J 26, 2584-2593. 2007.
4. Tanaka, T., Mizukoshi, T., Sasaki, K., Kohda, D., and Masai, H.  
*Escherichia coli* PriA protein, two modes of DNA binding and activation of ATP hydrolysis.  
J Biol Chem 282, 19917-19927. 2007.
  5. Shinohara, M., Shang, W. H., Kubodera, M., Harada, S., Mitsushita, J., Kato, M., Miyazaki, H., Sumimoto, H., and Kamata, T.  
Nox1 redox-signaling mediates oncogenic Ras-induced disruption of stress fibers and focal adhesions by down-regulating Rho.  
*J. Biol. Chem.* 282(24):17640-17648. 2007.
  6. Kakiuchi K, Yamauchi Y, Taoka M, Iwago M, Fujita T, Ito T, Song SY, Sakai A, Isobe T, Ichimura T.  
Proteomic analysis of in vivo 14-3-3 interactions in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*.  
Biochemistry. 46, 7781-7792. 2007.
  7. Tanaka, T., Mizukoshi, T., Sasaki, K., Kohda, D., and Masai, H.  
*Escherichia coli* PriA protein, two modes of DNA binding and activation of ATP hydrolysis.  
J Biol Chem 282, 19917-19927. 2007.
  8. Fujii, M., Inoguchi, T., Maeda, Y., Sasaki, S., Sawada, F., Saito, R., Kobayashi, K., Sumimoto, H., and Takayanagi, R.  
Pitavastatin ameliorates albuminuria and renal mesangial expansion via down-regulation of NOX4 in db/db mice.  
Kidney Int. 72(4): 473-480. 2007.
  9. Miyano, K. and Sumimoto, H.  
Role of the small GTPase Rac in p22<sup>phox</sup>-dependent NADPH oxidases.  
*Biochimie.* 89(9):1133-1144. 2007.
  10. Igura, M., Maita, N., Obita, T., Kamishikiryo, J., Maenaka, K., and Kohda, D.  
Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction studies of the soluble domain of the oligosaccharyltransferase STT3 subunit from the thermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*.  
Acta Crystallogr. F63, 798-801. 2007.
  11. Kohda, D., Yamada, M., Igura, M., Kamishikiryo, J., and Maenaka, K.  
New oligosaccharyltransferase assay method.  
Glycobiology, 17, 1175-1182. 2007.
  12. Saitoh, T., Igura, M., Obita, T., Ose, T., Kojima, R., Maenaka, K., Endo, T. and Kohda, D.  
Tom20 recognizes mitochondrial presequences through dynamic equilibrium among multiple

- bound states.  
EMBO J, 26, 4777–4787. 2007.
13. T. Hashiguchi, M. Kajikawa, N. Maita, M. Takeda, K. Kuroki, K. Sasaki, D. Kohda, Y. Yanagi, K. Maenaka  
Crystal structure of measles virus hemagglutinin provides insight into effective vaccines.  
Proc Natl Acad Sci USA 104, 19535–19540. 2007.
  14. S. Tabata, K. Kuroki, N. Maita, J. Wang, I. Shiratori, H. Arase, D. Kohda, K. Maenaka.  
Expression, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of human paired Ig-like type 2 receptor alpha (PILRalpha).  
Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun 64, 44–46. 2007.
  15. Igura, M., Maita, N., Kamishikiryo, J., Yamada, M, Obita, T., Maenaka, K., and Kohda, D.  
Structure-guided identification of a new catalytic motif of oligosaccharyltransferase.  
EMBO J, 27, 234–243. 2008.
  16. Takeya R, Taniguchi K, Narumiya S, Sumimoto H.  
The mammalian formin FHOD1 is activated through phosphorylation by ROCK and mediates thrombin-induced stress fibre formation in endothelial cells.  
*EMBO J*. 27(4):618– 628. 2008.
  17. Mayumi M, Takeda Y, Hoshiko M, Serada K, Murata M, Moritomo T, Takizawa F, Kobayashi I, Araki K, Nakanishi T, Sumimoto H.  
Characterization of teleost phagocyte NADPH oxidase: Molecular cloning and expression analysis of carp (*Cyprinus carpio*) phagocyte NADPH oxidase.  
*Mol Immunol*. 45(6):1720– 1731. 2008.
  18. Shono, T., Yokoyama, N., Uesaka, T., Kuroda, J., Takeya, R., Yamasaki, T., Amano, T., Mizoguchi, M., Suzuki, S. O., Niuro, H., Miyamoto, K., Akashi, K., Iwaki, T., Sumimoto, H., and Sasaki, T.  
Enhanced expression of NADPH oxidase Nox4 in human gliomas and its roles in cell proliferation and survival.  
Int. J. Cancer, in press. 2008
  19. Kito, K., Kawaguchi, N., Okada, S., Ito, T.  
Discrimination between stable and dynamic components of protein complexes by means of quantitative proteomics.  
Proteomics 8, in press. 2008.
  20. S. Tabata, K. Kuroki, J. Wang, M. Kajikawa, I. Shiratori, D. Kohda, H. Arase, K. Maenaka.  
Biophysical characterization of O-glycosylated CD99 recognition by paired Ig-like type 2 receptors (PILR).  
J Biol Chem, in press. 2008.

(2) 特許出願

平成 19 年度国内特許出願件数： 0 件 (CREST 研究期間累積件数： 2 件)