

産業技術総合研究所

DNA情報科学研究グループ グループリーダー

鈴木 理

「超好熱性古細菌転写因子ネットワークの構造生物学的解析」

## 1. 研究実施の概要

### (1) 経緯

真核生物や真正細菌（大腸菌など昔から知られている細菌の大半）と並ぶ、古細菌という重要な系統が生物学に定着したのは、ごく最近の事である。進化の過程で始原生命がやがて古細菌と真正細菌に分化したとされ、また 100 度以上といった極限的環境下に生育する古細菌種が多く存在する事から、広く関心が持たれている。本研究では古細菌ゲノムの全塩基配列と転写関連蛋白質の立体構造の決定と解析をもとに、古細菌の転写ネットワークを解明する事を第一の目標とした。遺伝子の発現（転写）は、遺伝子上流のプロモーターDNA 配列への転写因子蛋白質の選択的な結合によって制御される。「100 の遺伝子を制御するために 100 の転写因子が必要で、100 の転写因子遺伝子を制御するために別の 100 の転写因子が必要で…」という連鎖が続けば、ゲノムは発散してしまう。これを解消する機構の解明を、独立した生物としては最小数の遺伝子しか持たない古細菌の利点を活用して（2 百万塩基程度のゲノムに約 2000 の遺伝子を記録する）試みる構想であった。

古細菌の中には好熱性（最適生育温度 60~80 度）、超好熱性（最適生育温度 80 度以上）の種が多く含まれる。これら古細菌が高温へと適応する機構の解明は、生命工学的な新技術の開発につながるだけでなく、極限環境下に機能する蛋白質を知る事により、翻って蛋白質の一般的な基本特性を解明する上で重要である。さらに、本研究により得られる知見を総合して、古細菌の進化上の位置づけ、生命の起源と進化に関する情報を得る事を目標とした。

5 年間の研究の結果、幸いにも、好熱性古細菌 *Thermoplasma volcanium*（生育温度 60 度）のゲノム全 DNA 配列（1,584,804 塩基）を決定するとともに（大阪大学等との共同研究）、*Pyrococcus*（超好熱性）、*Thermoplasma*、*Sulfolobus*（好熱性）、由来の転写関連蛋白質（TBP、TF II S、FFRP、NusA、NusG、OT1665487 等）の立体構造を X 線結晶解析法あるいは NMR 分光法により決定する事ができた。これらを決定する過程で、また決定された配列、構造の解析をもとにして、得られた知見が以下である。

### (2) 古細菌の転写ネットワーク

*T. volcanium* は、好気性、嫌気性両方の環境下に生育可能な珍しい古細菌で、環境変化に対応するための転写制御機構を持つと予想された。これがこの種をゲノム配列決定の対象とした理由の一つである。配列を解析する第一歩は、遺伝子の同定である。一般に、形式的にスタートコドンで始まりストップコドンで終了するニセの遺伝子区画がゲノム配列中に多数含まれる（*T. volcanium* のニセ区画は真の遺伝子の約 3 倍）。転写（TATA ボックス）や翻訳（SD）のシグナル配列をゲノム配列中に同定する技術を開発し、また、遺伝子部における 4 塩基の組み合わせ方が非遺伝子部位とは異なる事を発見した。これらをもとに正確な遺伝子同定を可能にした事は、我々の大きな成果である。

この結果、遺伝子上流部分として、完全なセット、約千のプロモーターDNA 配列が同定されるとともに（制御される DNA からのアプローチ）、同定された遺伝子の配列をもとに転写因子候補を検索する（制御する蛋白質からのアプローチ）事が可能になった。*T. volcanium* のゲノムには、異なる環境下で機能する2セットの電子伝達系蛋白質の遺伝子群が記録されていた。また、高濃度酸素への暴露により、SOD等の活性酸素除去蛋白質の遺伝子群が活性化される事を見出した。各遺伝子群のプロモーター配列の共通性と差異を解析し、また約千のプロモーターDNA 配列を直接、比較する事により、類似するプロモーター群を同定した。意外な事に、各群に共通な特徴は、百塩基ほどにわたる「ぼんやりとした」類似で、数塩基程度の正確な保存ではなかった。その理解は、後に述べる構造生物学的なアプローチを待たねばならなかった。

他生物由来の転写因子との類似から同定された転写因子候補の総数は *Pyrococcus* 属で20~21、*Thermoplasma* 属で8~9となり、予想される転写因子の全数とそれほど異なるものではなかった。大腸菌の4千余の遺伝子の3%が転写因子である事から、よりシステムが簡略である古細菌では、1~2%、20個程度が転写因子関連と予想されるためである。その大部分は代謝の制御に関与する蛋白質群で、全ての古細菌種に存在する（Feast-Famine Regulatory Protein、FFRPと命名）。

FFRPは大腸菌の転写因子（Lrp、AsnC）に類似する。Lrpは、数多くある転写調節因子の一つではなく、グローバル制御因子とも呼ばれ、代謝関連を中心に、大腸菌の全遺伝子の10%以上を制御すると言われるものの、その機構は明らかではなかった。培地の栄養性が高くなると、大腸菌は移動を停止し、膜を介して栄養を摂取する一方で、独立栄養的なアミノ酸合成を停止し、増殖を開始、その感染性までが変化する。LrpやAsnCはこのような「宴会-飢餓」制御を担う因子として位置づけられる。大腸菌の半分以下の長さのゲノムに多数のFFRPを持つ古細菌では、その大半の遺伝子がFFRPの制御下にある可能性がある（*Pyrococcus* OT3のFFRPは11種）。ゲノム配列の解析により、全長を持つFFRP（DNAに結合するNドメインと、会合に関与するCドメインから構成される）以外にデミFFRP（全長FFRPの半分の長さしかなく、会合に関与するCドメインのみを持ち、DNAに結合しない）がある事が明らかになった（*P.* OT3の場合、3種）。*P.* OT3のデミFFRP、全長FFRPを結晶化し、デミFFRPの構造を決定した。

FFRPは二量体を形成し、さらにその4ケが会合して8量体を形成する。デミFFRP8量体は円盤状の会合体で、その外周に8ケのDNA結合ドメインが並んで全長FFRP8量体となる。そのまわりには約100塩基のDNAが一周すると予想される。会合部中央に十字形の溝があり、多様な代謝産物（リンゴ酸、 $\alpha$ ケトグルタル酸、各種アミノ酸等）が作用して、会合を正負に制御する。したがってFFRP-DNA複合体はリガンドによる転写制御機構を備えたヌクレオソームとも呼ぶべき画期的な構造を持つ。

デミFFRPを全長FFRPの会合体に組み込む事により、会合体中のDNA結合ドメインの数や配置を変化させ、結合するプロモーターDNA配列を多様化する事が可能と予想される。

各リガンドの量は環境や代謝の変化によって変動する。会合体のリガンド結合部位の差異をうまく使えば、各リガンドに対応して特定の会合体の形成、したがって特定のプロモーターの選択が可能であろう。ヌクレオソーム中の DNA 配列の類推からすると、標的プロモーターは少数の特定された塩基から構成されるのではなく、適切な曲率が形成されるように 100 塩基の全長にわたって適切に特定のタイプの塩基を配置したものになると考えられる。

この様にして、本研究の第一目標であった、転写制御システムを自己完結させる原理は少数の蛋白質の組み合わせによる多様な特性の系統的な創出と選択であると結論された。

「組み合わせ」は青と黄の混合があくまでモザイクで、緑にはならない生命現象の重要な本質である。

### (3) 高温へと適応する機構

*T. volcanium* のゲノム配列を決定した第 2 の理由は、この古細菌が、すでにゲノム配列が決定されている超好熱性細菌と常温性生物との中間に生じた「空白の生育温度」を持つためである（耐熱性酵素の利用といった期待から超好熱性細菌数種の全ゲノム DNA 配列が決定されている一方で、好塩性古細菌やヒトの病原菌や共生菌は 20~37 度の最適生育温度をもつ）。*T. volcanium* の配列の決定により、生育温度と相関する古細菌のゲノム DNA 配列の様々な特徴が同定された。

同定された要素の中に、ゲノム DNA 分子の「硬さ」が含まれていた。DNA 分子を温めると運動性が上昇して柔らかくなる。各生育温度で DNA が適切な柔軟性を持つためには、より高温で生育する古細菌のゲノム DNA 分子ほど硬くなる必要がある。DNA の物性や立体構造上の特性は、化学構造が大きく異なる 2 種類の塩基、プリン (A,G) とピリミジン (T,C) の組み合わせ方で規定される。生育温度の上昇につれて、柔軟な配列（ピリミジン-プリン配列、TA、CG、CA、TG）が避けられ、固い配列（AA、AG、TT、TC 等同種塩基の連続）が増加する事が明らかになった。

100 度で DNA 二重らせんを保持するためには、水素結合を 3 本持つ G:C 塩基対の含量が増加すると想像する人もあるだろう。実際には、その様な相関は認められない。超好熱性の *Pyrococcus* 属の細胞内では K (600mM~1M) や Mg (50~100mM) の濃度が極めて高い事が明らかになり、これが DNA 二重らせんが解離しない原因と考える。細胞内イオン濃度の上昇は、蛋白質等他の生体分子の再設計を必要とする。この様に生育温度と相関する要素の中には、高温への直接的な適応要素以外に、より間接的な適応が含まれていた。個別の構成要素を環境変化にあわせてそれぞれ再設計するというよりは、細胞システムとして環境変化に対応する機構がゲノム配列の比較から明らかになった。

一方では、蛋白質の立体構造から耐熱化の過程をより直接的に解析した。その 1 例である TATA 結合蛋白質 (TBP) は、古細菌と真核生物に共通する転写関連蛋白質である。*Sulfolobus acidocaldarius* (生育温度 75 度) 由来の TBP の立体構造を新たに決定する事によ

り、他グループが決定した超好熱性古細菌（生育温度 105 度）由来の TBP および常温性真核生物（生育温度 23~37 度）由来の TBP を含めて、3つの温度帯に由来する蛋白質の立体構造を、アミノ酸位置を一対一に対応させながら比較する事が可能になった。これはそのような初めての例である。この結果、蛋白質立体構造を安定化する主要因が、蛋白質表面のイオン結合といったものではなく、ドメイン内部の疎水性相互作用である事が結論された。

結晶構造をもとに TBP ドメイン内部と蛋白質表面を構成するアミノ酸位置を切り分け、10~100 度の生育温度を持つ古細菌種由来の TBP のアミノ酸配列を解析した。この結果、生育温度の上昇とともにドメイン内部の疎水性が上昇し、表面の疎水性が減少する事が結論された。立体構造の詳細な解析から、生育温度の上昇につれて、大きさが中程度で疎水性がきわめて高い3種のアミノ酸（バリン、ロイシン、イソロイシン）の含量がドメイン内部で増えるとともに、これらのアミノ酸どうしの疎水性ネットワークが形成されていく状況が明らかになった。100 度を超えて TBP をさらに耐熱化するためには、この3種のアミノ酸をさらに導入して内部の疎水性を高める必要がある。超好熱性古細菌由来の TBP のドメイン内部のほとんどの位置が3種アミノ酸に占められていて、残された数ヶ所が人工改変の標的と結論された。

#### (4) 古細菌の進化

マーギュリスらは、細胞内共生により真核細胞が誕生した際に、*Thermoplasma* 属の古細菌（細胞壁を持たない）が核の起源になったと主張している。*T. volcanium* の配列を決定した後に、ドイツのグループが *Thermoplasma acidophilum* の配列を決定した。いずれ両配列をもとに近縁古細菌のゲノムの比較が可能になる事は当初から明らかであった。生命の起源と進化を考える上で興味深い対象である事が、*Thermoplasma* を研究対象とした第3の理由である。

同属の古細菌のゲノム配列の比較からは、ゲノムの動的な性格が明らかになった。近縁の古細菌どうしても、それぞれの約20%の遺伝子が相手のゲノムには見つからない。この20%がゲノム中で集合し、「原住」の遺伝子とは A/T 含量が異なる傾向を持つ事から、その多くは「外来」と判断された。外来遺伝子は短時間に大量に導入されていて（1億年に約100ヶ）、その大部分は捨てられ、システムに取り込まれたものはごく少数と考えられる。外来遺伝子のかなりの割合が、我々が知る、いかなる遺伝子とも有為の相同性を示さない事から、「未知の遺伝子プール」が古細菌が生育する様々な環境下に存在すると考えざるを得ない。片方のゲノムにしかない遺伝子の中から外来遺伝子を除外する事により、ゲノムの中で新しく作られた蛋白質遺伝子が特定された。ドメイン間シャッフルの例はほとんど見つからず、原始ミオグロビンがヘモグロビン各鎖へと高度化したように、遺伝子重複と変異の集積により機能分化しつつある蛋白質が含まれる。ゲノム DNA 分子自身は、1億年に約2回の割合で、DNA 複製の開始点を中心として、環状のゲノム中の左右対称の位置

で、右から左へ、左から右へとつなぎ代わる事が明らかになった。この再構成を生む機構として、「環状ゲノム分子を互いに反対方向に進行する2つの複製フォークが実際には単一の複合体を形成していて、この中の等価な2つのサブユニットがDNA分子を付けたまま交換する」とするモデルを提案した。

多くのグループの研究から、古細菌の基本転写系を構成するTBPやRNAポリメラーゼ等の蛋白質が全て真核生物型である事が結論された。一方、FFRP等、私達が同定した転写因子は全て真正細菌型であった。このように、古細菌のゲノムは異質な2つの蛋白質集団から構成されている。他生物由来の遺伝子と類似性を持つ古細菌遺伝子集団の約4分の1が真核生物型、約4分の3が真正細菌型である。真核生物型遺伝子はゲノム上特定の場所に局在する傾向を持ち、この傾向は、特に、*P. OT3*で顕著である。真核生物型遺伝子群と真正細菌型遺伝子群の境界は、転写、翻訳といった大まかな機能分類とは一致せず、たとえばリボゾームを構成する蛋白質は明らかに真核生物型であるのに対し、RNAはいずれも真正細菌型である。これらの知見は古細菌ゲノムが、起源の異なる2つのゲノムの融合によって、あるいは真核生物型遺伝子集団による真正細菌型ゲノムの「乗っ取り」により誕生した可能性を示唆するものとする。真核生物型のリボゾームは、SD配列を持つ真正細菌型の遺伝子を制御するために、16SをはじめとするリボゾームRNAだけは受け継がなければならなかったようである。この「乗っ取り」が真核生物型のTATAボックス転写シグナルに真正細菌型のSD翻訳シグナルを備えた、またTBPとFFRPを組合わせた奇妙な機構を形成したのではなかろうか。

## 2. 研究構想

分子生物学が発展する以前には、形態以外には生物を分類する手がかりがなく、細胞の形態から、真核生物（核やミトコンドリア等のコンパートメントから細胞が構成される）と原核生物（細胞にコンパートメントがない単細胞生物）に全生物が2分類されていた。1970年代以降、遺伝子に関する知見が集積されるにつれて、原核生物の中に遺伝子の構成や配列が異なる2つのグループが存在する事が明らかになり（1980年頃の事）、今では、真核生物、真正細菌（従来から知られていた原核生物の多く）、そして、古細菌（本研究の対象、新しく確立された原核生物のグループ）に生物は3分類されている（図1、2）。

寄生性の生物種（アミノ酸合成等を一切行わず、栄養をホストに依存している *Mycoplasma* のような生物種）を除くと、古細菌は微生物の中でも最も簡潔な生き物である。ゲノムを構成する塩基数（1.5~1.8M）の点でも、ゲノムに記録された遺伝子数（1500）点でも、微生物中、古細菌は最小で、大腸菌の約3分の1である。この簡潔性に注目して、包括的な生命像を追求する事が本研究の最も重要な課題であった。すなわち、本研究では古細菌ゲノムの全塩基配列と転写関連蛋白質の立体構造の決定と解析をもとに、古細菌の転写ネットワークの全体像を解明する事を第一の目標とした。

生命の「生命らしさ」の根幹には、外界、すなわち環境の変化への応答がある（図3）。環境変化への応答は、ゲノムに記録された全遺伝子の中から必要とするものを選び直す事によって可能となる。つまり、ゲノムに記録された遺伝子の全てが常に使用されるわけではなく、必要な遺伝子のみを選択的に使用する事により、環境変化への応答が可能になる。多細胞生物を構成する各細胞が、同じゲノム情報を共有しながらも、別の機能と形態を持つ細胞へと分化するのも同じ原理による。遺伝子の選択は、遺伝子上流のプロモーター DNA 配列に転写因子蛋白質が選択的に結合し「標識」する事によって、その遺伝子の転写（使用）が選択される分子レベルの過程である（図4）。

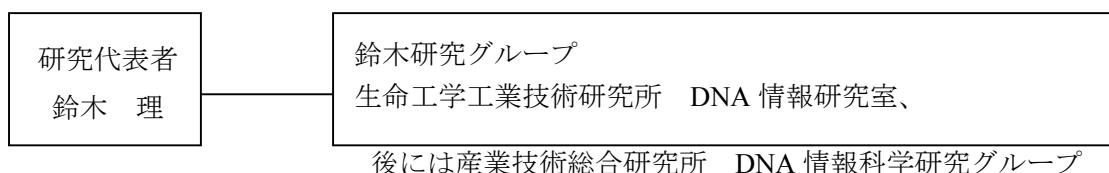
ここで問題となるのは、転写因子蛋白質もまた、同じゲノムに記録された遺伝子の産物だという点である。もし「100 の遺伝子を制御するために 100 の転写因子が必要で、100 の転写因子遺伝子を制御するために別の 100 の転写因子が必要で…」という連鎖が続けば、ゲノムは発散してしまう（図4）。「ゲノムという同一のハコに、制御するものと制御されるものを入れて有限の大きさに収束させる機構」を、古細菌が持つ簡潔性を最大限に活用して解明する事が本研究の構想であった。

古細菌には、100 度以上、数十気圧、pH1 以下といった極限的な環境に生育する種が多く含まれる（図2）。古細菌は、この様な環境に適応するための未知の遺伝子を多く持つ有用な資源である。特に、好熱性（最適生育温度 60~80 度）、超好熱性（最適生育温度 80 度以上）の古細菌を研究の対象とする事により、第1の目標を達成する過程で得られるゲノム DNA 配列や蛋白質立体構造をもとに、古細菌が高温へと適応する機構を解明する事が本研究の第2の目標であった。高温への適温機構の解明は生命工学的な新技術の開発につながるだけではなく、基礎科学の発展にとって重要である。特に、極限環境下に機能する蛋白質を知る事により、翻って蛋白質の一般的な基本特性を解明する事が可能になると考えた。

さらに、本研究により得られる知見を総合して、古細菌の進化上の位置づけ、生命の起源と進化に関する情報を得る事を第3の目標とした。進化の過程において始原細胞がまず古細菌と真正細菌へ分化したと考えられており、真正細菌との比較から最初の生命像を明らかにするために古細菌は重要である。古細菌の遺伝子構成は真核生物に近い要素を持ち、真核生物の起源や、真核生物だけが多細胞生物へと進化した理由を探るためにも、古細菌は重要な位置を占める。この様な認識のもとに、古細菌の転写調節機構を解明し、これを真正細菌や真核生物の転写調節機構と比較する構想であった。

### 3. 研究実施体制

単一の研究グループ(鈴木研究グループ)のみから研究チームが構成された。



### 4. ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名 称	場 所	参加人数	概 要
平成 10 年 1 月 11 日 ～12 日	生命工学シンポジウム 「構造生物学とゲノム 生物学」	つくば研 究支援セ ンター	250 名	海外から 17 名の研究者を招聘して行われた シンポジウム。
平成 10 年 1 月 13 日 ～14 日	Tsukuba Workshop on Nucleic Acid Structure and Interactions	生命工学 工業技術 研究所	20 名	海外から 17 名の研究者を招聘して行われ た、クローズドのワークショップ。 会議の合意事項は IUPAC-IUBMB の規約と して発表された(参考文献2)。
平成 11 年 8 月 20 日 ～22 日	古細菌ゲノム勉強会 (内部のミーティング)	生命工学 工業技術 研究所生 物情報棟 セミナー室	各 25 名	外部より、大阪大学牧野助教授、東京大学 田中助教授、東北大学大学院布柴助教授、 広島大学中舩助手、第一薬科大学荒牧講師 を招聘し、当研究グループのメンバーとと もに <i>Thermoplasma</i> を中心とする好熱性古 細菌ゲノム DNA 配列の解析結果について のクローズドの研究発表、およびディスカ ッションを行った。
平成 12 年 9 月 12 日 ～13 日				
12 月 26 日 ～27 日				



## 5. 主な研究成果

### (1) 原著論文等

#### 2001 年

- 1) Olson W.K., Bansal M., Burley S.K., Dickerson R.E., Gerstein M., Harvey S.C., Heinemann U., Lu X-J., Neidle S., Shakked Z., Sklenar H., Suzuki M., Tung C-S., Westhof E., Wolberger C. and Berman H. A Standard Reference Frame for the Description of Nucleic Acid Base-Pair Geometry, *J. Mol. Biol.*, 313, 229-237 (2001)
- 2) Makino S., and Suzuki M., Bacterial Genomic Reorganization upon DNA Replication, *Science*, 292, 803 (2001)
- 3) Kudo N., Allen M.D., Koike H., Katsuya Y., and Suzuki M., Crystallization and Secondary Structure Determination of a Protein in the Lrp/AsnC Family from a Hyperthermophilic Archaeon, *Acta Cryst.*, D57, 469-471 (2001)

#### 2000 年

- 4) Kawashima T., Amano N., Koike H., Makino S., Higuchi S., Kawashima-Oya Y., Watanabe K., Yamazaki M., Kanehori K., Kawamoto T., Nunoshiba T., Yamamoto Y., Aramaki H., Makino K., and Suzuki M., Archaeal Adaptation to Higher Temperatures Revealed by Genomic Sequence of *Thermoplasma volcanium*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 14257-14262 (2000)

#### 1999 年

- 5) Makino S., Amano N., and Suzuki M., Visual Presentation of Complete Genomic DNA Sequences, and Its Application to Identification of Gene-coding Regions, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 311-316 (1999)
- 6) Koike H., Kawashima T., and Suzuki M., Enzymes Identified Using Genomic DNA Sequences Suggest Some Atypical Characteristics of *de novo* Biosynthesis of Purines in Archaeobacteria, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 263-268 (1999)
- 7) Higuchi S., Kawashima T., and Suzuki M., Comparison of Pathways for Amino Acid Biosynthesis in Archaeobacteria Using Their Genomic DNA Sequences, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 241-245 (1999)
- 8) Kawashima T., Yamamoto Y., Aramaki H., Nunoshiba T., Kawamoto T., Watanabe K., Yamazaki M., Kanehori K., Amano N., Ohya Y., Makino K., and Suzuki M., Determination on the Complete Genomic DNA Sequence of *Thermoplasma volcanium* GSS1, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 213-218 (1999)
- 9) Makino S., Amano N., Koike H., and Suzuki M., Prophages Inserted in Archaeobacterial Genomes, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 166-171 (1999)
- 10) Koike H., Kawashima T., and Suzuki M., Comparison of Archaeobacterial Central Metabolic Pathways Using the Genomic DNA Sequences, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 101-106 (1999)
- 11) Suzuki M., An Outline of an Informatical Method for Identifying the Complete Set of Genes Using the DNA Sequence of a Whole Genome, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 81-86 (1999)
- 12) Tateno M., Koike H., Amano N., Ohfuku Y., and Suzuki M., Archaeobacterial Ribosome is a

Chimera of Eubacterial-Type RNAs and Eukaryotic-Type Proteins, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 64-69 (1999)

- 13) Koike H., Amano N., Tateno M., Ohfuku Y., Suckow J.M., and Suzuki M., Distribution and Orientation of Genes in the Genome of *Pyrococcus* OT3, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 37-72 (1999)
- 14) Suckow J.M., and Suzuki M., A Sequence of Thirty Bases That Is Highly Repetitive in Archaeobacterial Genomes, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 16-21 (1999)
- 15) Suckow J.M., and Suzuki M., Genomic DNA Shuffling in Archaeobacteria, *Proceedings of the Japan Academy*, B75, 10-15 (1999)
- 16) Koike H., Kawashima T., Yamamoto Y., Aramaki H., Kawamoto T., Nakamasu K., Noshiro M., Nunoshiba T., Watanabe K., Yamasaki M., Ohya Y., Amano N., Suckow J.M., Tateno M., Makino K., and Suzuki M., Determination of the Complete Genomic DNA Sequences of *Thermoplasma volcanium* GSS1, *Microbial & Comparative Genomics*, 4, 121 (1999)

#### 1998 年

- 17) Allen M.D., Yamasaki K., Takagi M., Tateno M., and Suzuki M., A Novel Mode of DNA Recognition by a  $\beta$ -Sheet Revealed by the Solution Structure of the GCC-Box Binding Domain in Complex with DNA, *The EMBO Journal*, 17, 5484-5496 (1998)
- 18) Suckow J.M., Amano N., Ohfuku Y., Kakinuma J., Koike H., and Suzuki M., A Transcription Frame-based Analysis of the Genomic DNA Sequence of a Hyper-Thermophilic Archaeon for the Identification of Genes, Pseudo-Genes and Operon Structures, *FEBS Letters*, 426, 86-92 (1998)
- 19) Tateno M., Yamasaki K., Amano N., Kakinuma J., Koike H., Allen M.D., and Suzuki M., DNA Recognition by  $\beta$ -Sheets, *Biopolymers (Nucleic Acid Sciences)*, 44, 335-359 (1998)
- 20) Yamasaki T., Suckow J.M., Yamasaki K., and Suzuki M., Zinc Finger Proteins of the Archaeobacterial Origin, *Proceedings of the Japan Academy*, B74, 227-232 (1998)
- 21) Yamasaki T., Yamasaki K., and Suzuki M., Methylation of Adenine Bases at the N<sub>6</sub>H<sub>2</sub> Groups Decreases the Melting Temperature of the DNA Duplex Independently of the Nucleotide Sequence, *Proceedings of the Japan Academy*, B74, 210-215 (1998)
- 22) Ohfuku Y., Koike H., Azuma Y., Kawashima T., Kudo N., Amano N., Kakinuma J., Suckow J. M., and Suzuki M., Identification of Genes in the Complete Genomic DNA Sequence of a Hyper-Thermophilic Archaeon, *Pyrococcus* sp. OT3, *Proceedings of the Japan Academy*, B74, 90-95 (1998)
- 23) Ohfuku Y., Koike H., Amano N., Kakinuma J., Tateno M., Suckow J.M., and Suzuki M., Informatical Analysis of Archaeal Genomic DNA Sequences 3: Positioning of High Repetitive DNA Sequences in Reference to the Direction of Transcription and Replication, *Microbial & Comparative Genomics*, 3, C31-C32 (1998)
- 24) Azuma Y., Ohfuku Y., Koike H., Amano N., Kakinuma J., Tateno M., Suckow J.M., and Suzuki M., Informatical Analysis of Archaeal Genomic DNA Sequences 2: Gene Composition of Archaeal Genomes, *Microbial & Comparative Genomics*, 3, C21-C22 (1998)
- 25) Amano N., Ohfuku Y., Kakinuma J., Koike H., Tateno M., Suckow J.M., and Suzuki M., Informatical Analysis of Archaeal Genomic DNA Sequences 1: Informatical Basis for ORF Identification and Its Application to Developing an Efficient Algorithm for the Precise ORF

Identification, *Microbial & Comparative Genomics*, 3, C21 (1998)

## 1997 年

- 26) Suzuki M., Amano N., Kakinuma J., and Tateno M., Use of 3D Structure Data Base for Understanding Sequence-Dependent Conformational Aspects of DNA, *Journal of Molecular Biology*, 275, 1-14 (1997)
- 27) Amano N., Ohfuku Y., and Suzuki M., Genomes and DNA Conformation, *Biological Chemistry*, 378, 1397-1404 (1997)

### (2) 特許出願

出 願 日：平成 13 年 12 月 18 日

出願番号：特願 2001-384683

名 称：薬剤のスクリーニング方法

発 明 者：鈴木 理、小池英明

出 願 人：産業技術総合研究所、科学技術振興事業団

### (3) 新聞報道、受賞等

#### ① 新聞報道

- 1) 日経 TRIGGER、2001.9. (p.62-64)

「ゲノムの比較で細菌の耐熱化機構を解明」

- 2) 読売新聞夕刊、2001.2.27

「遺伝情報を視覚化」

- 3) 日経産業新聞、2001.2.6

「好熱性細菌のゲノム解読」

- 4) 日刊工業新聞、2001.2.6

「高温に強い理由明らかに」

- 5) NEW TECHNOLOGY JAPAN vol.26 JETRO 1999.3.

「New Informatic Approach for the Analysis of Genomic DNA Sequences (99-03-009-01)」

- 6) 日本工業新聞 1998.12.16.

「研究開発 遺伝子を正確に同定」

- 7) 日経産業新聞 1997.10.17.

「高温でも生育する古細菌の遺伝子 180 万塩基対を解析」

- 8) 日経産業新聞 1997.4.1.

「先端技術 増える公募型研究 16 競争働き国研が活性化」

#### ② 受賞

な し