

領域略称名：過渡的複合体  
領域番号：4104

平成23年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る研究経過等の報告書

「過渡的複合体が関わる生命現象の統合的理解  
－生理的準安定状態を捉える新技術－」

(領域設定期間)  
平成21年度～平成25年度

平成23年6月

領域代表者 東京大学・大学院薬学系研究科・教授・嶋田一夫



## 2. 目次

3. 研究領域の目的および概要 .....	1
4. 研究の進展状況 .....	2
5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応 .....	3
6. 主な研究成果 .....	4
7. 研究成果の公表状況	
(1) 主な論文等一覧について .....	9
(2) ホームページについて .....	20
(3) 公開発表について .....	20
(4) 「国民との科学・対話技術」について .....	26
8. 研究組織と各研究項目の連携状況 .....	26
9. 研究費の使用状況 .....	30
10. 今後の研究領域の推進方策 .....	30
11. 総括班評価者による評価の状況 .....	31

### 3. 研究領域の目的および概要

研究領域名: 過渡的複合体が関わる生命現象の統合的理解—生理的準安定状態を捉える新技術—

研究期間: 平成 21—25 年度

領域代表者: 東京大学大学院薬学系研究科・教授・嶋田一夫

補助金交付額(単位:千円): H21 年度 254,900、H22 年度 253,800、H23 年度 253,800、H24 年度 253,800、H25 年度 253,800

タンパク質の立体構造の視点に基づく構造生物学研究は、生物学研究の基盤技術として生命現象の理解に大きく貢献している。しかしながら、従来の構造生物学研究の方法論および技術的制約から、決定された立体構造の多くは、インタクトのタンパク質から機能ドメインを切り出すなどの処置を施した対象に限られ、必ずしも *in situ* の状態を反映しているわけではない。さらに、同様の制約のため、複合体の構造解析も、多くは高親和性のリガンドとその標的タンパク質に限られている。一方、実際の生命現象発動の場においては、分子、細胞レベルなど様々な階層において、不安定で過渡的な複合体の存在およびその重要性が指摘されている。したがって、**どのようにして *in situ* な状態における性状解析を行うか？そして、どのようにして過渡的な複合体の機能を原子レベルで解析するか？**について真剣に考察することが重要と考えた。

本領域では、構造生物学、分子生物学、ケミカルバイオロジー、1分子計測学および免疫学の研究者の相互協力により、*in situ* における過渡的準安定複合体を原子・分子レベルの精度で可視化する方法論を確立し、開発された手法を個別の系に適用することにより実証する。そして、従来の構造生物学的研究アプローチと合わせて過渡的準安定複合体が関わる生命現象の解明を行うことを目的とする。

研究期間内で開発する具体的な研究要素として、1. *in situ* における過渡的準安定状態を原子レベルで記述可能にするサンプル調製法の開発を含めたNMRやX線結晶法における新規測定・解析法の開発、2. 細胞表面におけるタンパク質の過渡的準安定状態を観測可能とする、蛍光顕微鏡の回折限界(約 250 nm)を破る超高解像度 1 分子蛍光顕微鏡の開発、3. 細胞表面および細胞内標的タンパク質分子に対する蛍光および低分子プローブを自在に導入できる新規化学反応の開発、4. 生細胞内におけるタンパク質の過渡的相互作用を解析できる新規NMR法の確立、5. 免疫細胞およびがん細胞の生体内動態機構の解明、を設定する。そして、原子レベル、分子レベルおよび細胞レベルの研究を行うことを目指し、

研究要素1を含む、

**A01: 準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構、**

研究要素2と3を含む、

**A02: 準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発、**

研究要素4と5を含む、

**A03: 生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析**

の3種類の研究項目を設定する。

生物学の発展を歴史的に俯瞰するならば、個体および細胞レベルで生命を理解しようとした分類学と観察学に始まり、酵素反応をとおして生体を理解しようとする生化学、制限酵素による DNA ハンドリングに基礎をおく分子生物学、原子レベルでの生命現象を目指した構造生物学という順番で、より分析的で精緻なレベルでの学問

領域が登場し、それまでの学問領域とあいまって進歩してきた。本提案領域では原子、分子、細胞レベルのそれぞれを取り扱うマルチスケール(多階層)な研究項目を設定し、研究項目間の相互作用的な共同研究を展開することにより、生命科学の統合的な理解を目指す。

#### 4. 研究の進展状況

研究項目ごとの研究進捗に関して記述する。

##### 【研究項目 A01:準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構】

本項目では研究開発要素として「*in situ*における過渡的準安定状態を原子レベルで記述可能にするサンプル調製法の開発を含めたNMRやX線結晶法における新規測定・解析法の開発」を設定している。これに関し、嶋田らは独自で開発した NMR 相互作用測定法である転移交差法などを用いて、GPCR タイプケモカイン受容体 CXCR4 におけるリガンド SDF-1 $\alpha$  の結合様式を解析した。その結果、過渡的複合体の検出に成功し、SDF-1 $\alpha$  は 2 段階の CXCR4 への結合によりシグナルを惹起していることを明らかにした(*J Biol Chem* 2009)。また、*in situ*を反映した膜タンパク質試料調製法(rHDL法)を開発し、通常用いられている界面活性剤による可溶化試料と比較して、10 倍以上の安定性を膜タンパク質に持たせることに成功した(*J Am Chem Soc* 2010)。さらに、K イオンチャンネルにおける動的構造平衡を、NMRを用いて解析し、チャンネルが開構造および閉構造のみをとるといった X 線結晶構造解析の知見のみからはでは説明できない K チャンネル不活性化機構を解明した(*Proc Natl Acad Sci USA* 2010、掲載号の commentary で取り上げられた)。神田らはミトコンドリアプレ配列受容体 Tom20 のプレ配列認識機構において、巧みにリガンド・受容体間にジスルフィド結合を導入し(molecular tethering 法)、過渡的複合体を安定化することに成功し、合わせて複数の結合状態の動的平衡が単一受容体の多様なプレ配列認識を可能としていることを明らかにした(*Biochemistry* 2011)。さらに、本手法をオリゴ糖転移(OST)酵素にも適応し、ジスルフィド結合で tethering され、かつ糖鎖受容活性を保持した OST 酵素・基質ペプチド複合体を得ることに成功した。また、嶋田らは、神田らによって開発された molecular tethering 法を細胞接着因子 CD44 に適応し、A03 の早坂とともに CD44 のリガンド認識部位の構造平衡が細胞のローリング減少に関与していることを明らかにした(*Structure*, 2010)。

##### 【研究項目 A02:準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発】

本項目では研究開発要素として「細胞表層におけるタンパク質の過渡的準安定状態を観測可能とする、蛍光顕微鏡の回折限界(約 250 nm)を破る超高解像度 1 分子蛍光顕微鏡の開発」および「細胞表層および細胞内標的タンパク質分子に対する蛍光および低分子プローブを自在に導入できる新規化学反応の開発」を設定している。船津らは *in vivo*(培養細胞)の系を用いて、トロンボポエチン(TPO)受容体 Mpl の多量体形成の様子を 1 分子イメージングにより解析し、Mpl は単量体と二量体の平衡状態で存在し、リガンド依存的に平衡が二量体側へと移動することを明らかにした。また、超高解像度 1 分子蛍光顕微鏡の開発に関しては、専用ステージを開発することにより、X,Y,Z 軸方向分解能がそれぞれ、30, 30, 60nm と回折限界を超えた分解能を達成した。浜地らは新規ケミカルプローブ導入法として、短いペプチド鎖(Asp4連続配列)を標的タンパク質に予め融合し、細胞内発現後にそのタグ選択的にプローブを導入する独自の手法を開発した。そして、膜タンパク質である GPCR に本手法を適応し、GPCR の internalization の可視化に成功した(*J Am Chem Soc* 2010)。また、後述の A03 の白川とともに、特定のタンパク質の存在を、<sup>19</sup>F-NMR/MRI を用いて検出およびイメージングできる新しい測定法の開発に成功した(*Nature Chemistry*, 2009)。

### 【研究項目 A03:生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析】

本項目では研究開発要素として、「生細胞内におけるタンパク質の過渡的相互作用を解析できる新規NMR法の確立」および「免疫細胞およびがん細胞の生体内動態機構の解明」を設定している。白川らは $^1\text{H}$ - $^{15}\text{N}$  相関2次元スペクトルを用いて生細胞内の安定同位体標識を施したタンパク質由来の NMR 観測(in-cell NMR)の開発に成功し (*Nature* 2009)、次いで  $^{19}\text{F}$  による部分標識を行ない、FKBP12 と免疫抑制剤 FK506 およびラパマイシンの相互作用の観測にも成功したさらに、細胞内や膜に形成するタンパク質高次複合体の形成や立体構造に関する情報を得ることを目標にして、ダイヤモンド微粒子中に存在する窒素-格子欠陥(NVC)を使った新規磁気センサーの開発を行った。その結果、NVC 蛍光の選択的検出、ESR スペクトル測定による粒子角度の決定および、細胞膜の振動数計測に成功した。早坂らはリンパ球および癌細胞において、CXCL12 ケモカイン(ケモカイン受容体 CXCR4 のリガンド)が、別のケモカイン受容体 CCR7 のリガンド (CCL19/CCL21) 応答性を促進することを明らかにし、(*J Immunol.* 2009)、次いで、分子生物学的研究により、CXCR4 リガンドによる CCR7 活性促進が、定常状態におけるリンパ球生体内動態だけでなく、ヒト癌細胞のリンパ節転移にも関与する可能性を示した。本研究に関し、早坂は、リンパ球の生体内動態の可視化を目指して、A01 嶋田とrHDL 法および A03 浜地と新規タグ導入法で共同研究を開始した。

## 5. 研究を推進する上での問題点と今後の対応策

計画研究に関しては当初計画されていた研究内容に関し成果があがりつつある。さらに A01 では、tethering 法導入により安定化された OST 酵素・リガンド複合体の取得およびイオンチャンネルの動的観点からの機能解析、A02 では新規生細胞における新規蛍光ラベル化法、A03 では新規ダイヤモンド粒子を用いた磁気センサーの開発など、当初予定されていなかった成果もでてきており、研究全体として順調に進行していると判断している。

公募研究に関しては、本領域の趣旨とは若干異なるものもあるが、この2年の班会議での発表および議論を通して、班員間共同研究が開始されていることを考え、これも特に問題はないと考える。しかしながら、もう少し多くの公募研究があるならば、さらに良い共同研究が生じたのではないかと考える。本領域を発足させるに当たり、公募要項の重複制限(1研究者は1領域のみ参加可)を考慮し、公募研究の一人当たりの研究費を500万円と高めに設定した。その結果、採択可能件数が20件と絞られ、十分な数の公募研究を採択できなかった。本領域へは、採択可能件数の5倍程度の申請があり、そのいずれも研究レベルは高く、これらを採択できなかったことが残念であった。

本領域研究推進上の問題点というものではないが、可能ならば、若手研究者に対して申請の重複制限を撤廃し、多くの若手研究者が複数の領域研究に参加できるようにすることが望ましいと考える。これは、今後の研究を担う若手研究者がさまざまな新学術領域研究に参加することにより研究の幅が広がり、将来のライフサイエンスの研究が活性化すると考えるからである。

## 6. 主な研究成果

### 【研究項目 A01. 準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構】

計画研究: 嶋田らは細胞接着因子 CD44 のヒアルロン酸結合部位の高親和性と低親和性構造の平衡が細胞ローリングに重要であることを示した (図 1-1、*Structure*. 2010)。また、CXCR4 とそのリガンドである SDF-1  $\alpha$  の結合が過渡的複合体形成を経た 2 段階結合様式であることを明らかにした (図 1-2、*J Biol Chem* 2009)。加えて、膜タンパク質の 2 重膜再構成法の確立に成功し、膜タンパク質を生理的条件下に近い 2 重膜に埋め込むことで、Gタンパク質共役受容体であるケモカイン受容体 CCR5 を通常の可溶化法と比較して約 10 倍の時間、活性を有した状態で安定に存在させることに成功した (*J Am Chem Soc* 2010)。さらに、K イオンチャネルの不活性化機構を、イオン選択フィルターの動的構造平衡の観点から解明した (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, (2010))。

ミトコンドリア輸送蛋白質 Tom20 は 2 つのサブサイトでプレ配列中の 3 つの疎水性アミノ酸を認識するため、複数の結合様式間の動的平衡が存在すると考えられている。神田らは動的平衡状態にある Tom20-プレ配列複合体を安定化するため、結合状態において不動点と想定される位置に分子間ジスルフィド結合を導入するデザインを行った。Tom20 に V109C を、プレ配列にホモシステインを導入すると、結合状態の運動性を妨げている可能性が示されたため、ホモシステインよりもさらにメチレン基が一個分長くなった Amp を導入したところ微結晶を得ることができた。さらに、分子内ジスルフィド結合を導入したプレ配列を用いて複合体構造を安定化し、その結晶構造を得ることも成功した (図 1-3、*Biochemistry* 2011)。公募班員杉田らは、Tom20 とプレ配列複合体の動的平衡状態を観測するため、公募研究と計画研究の共同研究の一環として、神田らと結晶構造を初期構造とした全原子 MD 計算を行い、各状態における構造の安定性揺らぎを観測することに成功した。また、免疫細胞表面受容体 LILRB1、LILRB2 と基質 HLA-G 複合体に関するマイクロ秒以上の分子動力的計算を行い、これまでの実験データを良く再現する結果を得た。

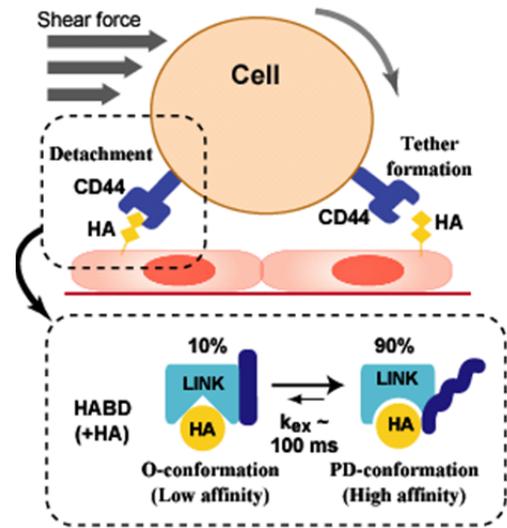


図1-1 CD44の構造平衡とローリング(嶋田)

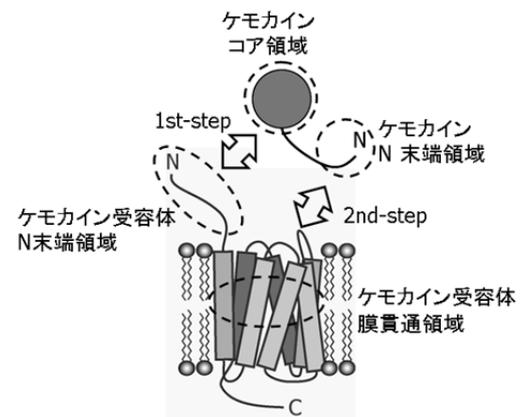


図1-2 ケモカイン受容体とケモカインとの相互作用における、二段階結合仮説の模式図(嶋田)

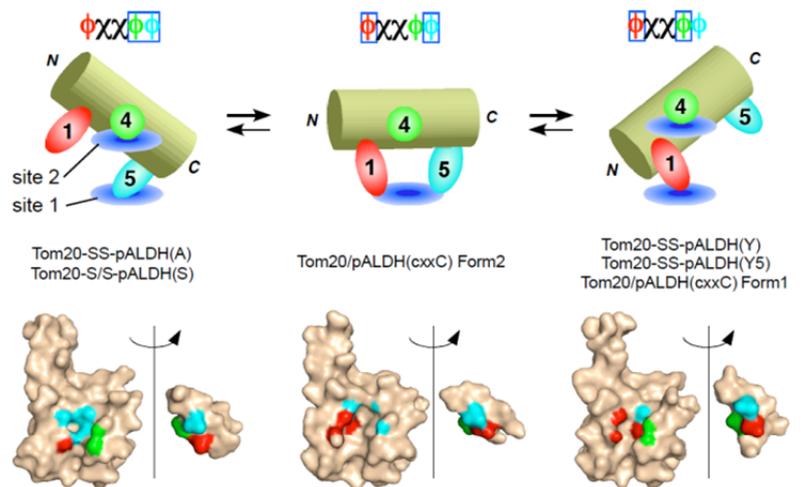


図1-3 Tom20によるプレ配列の動的認識(神田)

**公募研究:** 塚崎らは Sec トランスロコン複合体を構成する SecDF の結晶構造の精密化と機能解析を行い、生体膜を隔てた水素イオンの濃度差を利用して SecDF が大きな構造変化を繰り返し、膜を超えたタンパク質輸送に関与するという新たな仮説を提唱した(図 1-4, *Nature* 2011)。高木らは、ニューレキシン(Nrx)のニューログリン(NL)結合ドメインの X 線結晶構造を明らかにし、シナプス膜間で Nrx-NL 複合体がつくる準安定な高次構造体を蛍光-電子線相関顕微鏡観察法によって観察し、Nrx の細胞外領域のサイズによってシナプス間の集積構造が変化することを示した(図 1-5, *PLoS One* 2011)。広常らは、モーター蛋白質である細胞質ダイニンとその制御因子 LIS1 の機能解析を行い、微小管・細胞質ダイニン・LIS1 複合体がキネシン依存的に微小管のプラス端に運搬されるのに必須であることを明らかにした(*J Biol Chem* 2011)。また、ダイニン・LIS1 複合体が微小管に結合する際に、NUDC がアダプター蛋白質として機能することを明らかにした(*EMBO J* 2010)。片平らは、抗 HIV 活性を有する A3G のデアミネーション反応を NMR でリアルタイム観測し、一本鎖 DNA 上の 5' 側寄りに配置された基質のほうが 3' 側の基質よりも効率的な反応が進行することや、二本鎖 DNA にすると反応の起こりやすさに影響を受けることを明らかにし、A3G の DNA 上のスライディングを指示する結果を得ている。また、RNA とペプチドが複合体を形成することによって機能する RNP アプタマーに関して、標的分子である ATP との 3 者複合体の解析を行ない、高い親和性で ATP を捕捉する機構を明らかにした(*J Am Chem Soc* 2011)。藤木らはクロマチン制御に重要な糖修飾の新たな作用点を探索するため、抗 O-GlcNAc 化セリン/トレオニン認識抗体を用いたアフィニティー精製を行い、全 284 因子の同定に成功した。さらに、ヒストン H2B 蛋白質上の O-GlcNAc 化部位を同定することにも成功している。三島らはスプリット PH ドメインの立体構造を決定するため、PRE に基づく距離情報を取得し、スピンラベルの自由度を過程した構造計算を行った。構造解析の結果、膜との相互作用に適していると推測されるサブドメイン配置を有していることを明らかにした。また、転写共役抑制因子 SHARP の SPOC ドメインとリン酸化 SMRT 複合体の立体構造を決定した。須藤らは、赤外分光 (FTIR) 法を利用して X 線結晶構造解析や NMR 解析では得ることが難しい情報の取得を試みた。これまでに、1) FTIR 解析に適した試料調製 (*J. Biol. Chem* 2011, *Biophysics* 2011)、2) 低温/時間分解赤外分光法によるロドプシンタンパク質の構造変化解析 (*J. Biol. Chem* 2011, *Biochemistry* 2011)、3) ラマン分光法など他の分光測定 (*Biochemistry* 2011, *J. Phys. Chem. B* 2011)、4) 全反射型 FTIR (ATR-FTIR) におけるイオンと膜タンパク質の相互作用解析を行い、解析の難しい膜タンパク質の微細構造変化を明らかにした。樋口らは、Wnt シグナル伝達因子の集合離散を制御する CCD1-DIX ドメインの結晶化を行い、3.0 Å の解析データを収集し、位相決定と構造精密化を行った。結晶の非対称単位中には CCD1-DIX1 ドメインが 7 分子含まれ、7 回らせん状のオリゴマーを形成していることを見出した(*Acta Crystallogr* 2011)。また、シトクロム c が 2 量体以上のオリゴマーを形成することを見出し、その結晶構造解析に成功した (*Proc Natl Acad Sci USA* 2010)。

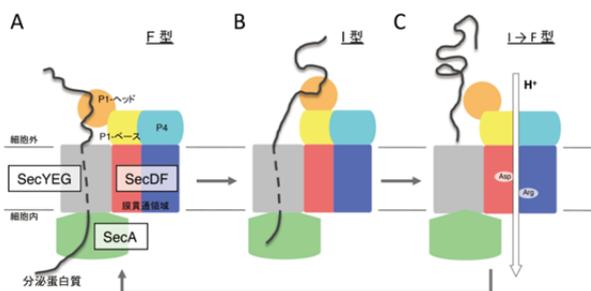


図1-4 SecDFの蛋白質輸送機構(塚崎)

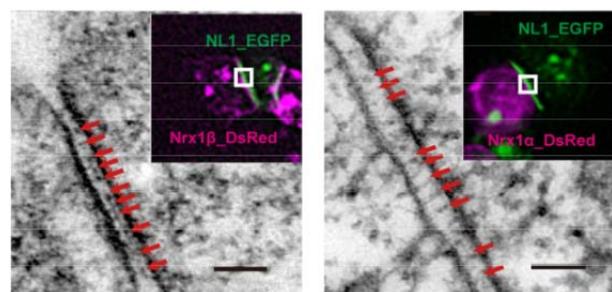


図1-5 シナプス間のNrx-NL複合体の集積(高木)

**【研究項目 A02:準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発】**

計画研究:A02 の船津らは、超高解像度の1分子観測法の技術開発を進めるとともに、細胞膜上のトロンボポエチン(TPO)受容体 Mpl の一分子ダイナミクスを観測した。その結果 Mpl はリガンド非存在下でも単量体と二量体の平衡にあり、TPO の結合によって平衡が二量体形成に傾くこと、そして Mpl 二量体はコレステロール依存的に促進されるが、Mpl そのものはがラフトには局在して二量体形成を制御されているのではないことなどを明らかにした(図 2-1)。また、多量体化した Mpl を光の回折限界を超えた超解像蛍光顕微鏡で観察するための準備を行い、モデル系として Alexa647 で蛍光標識した抗  $\alpha$  チューブリン抗体を用いて微小管を 30 nm の空間分解能で観察した。浜地らは、特定の蛋白質の存在に応答して  $^{19}\text{F}$ -NMR/MRI シグナルがオフからオンへと変換させるナノプローブの開発に成功した(図 2-2、*Nature Chemistry* 2009)。またこれまでに開発した reactive tag による標識戦略が可溶性蛋白質だけでなく細胞表層の GPCR を特異的に標識できることを示した(*J Am Chem Soc* 2010)。さらに、細胞内 ATP 濃度の変動をイメージングする蛍光プローブを開発することにも成功している。

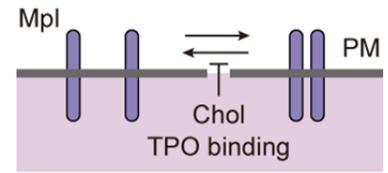


図2-1 Mplの二量体形成とその制御(船津)

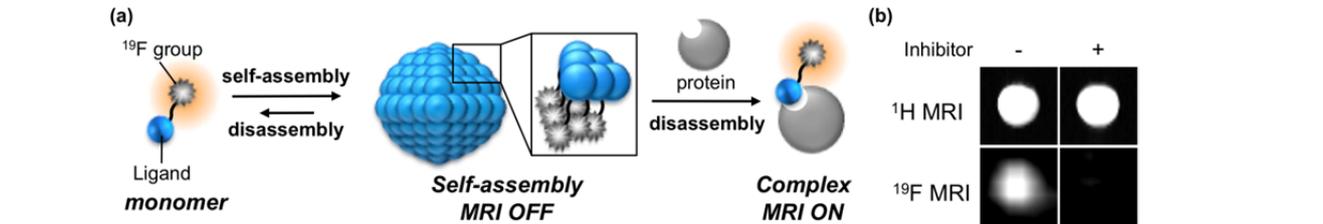


図2-2 特定の蛋白質の存在を検出する $^{19}\text{F}$ -NMR/MRIプローブの開発(浜地)

公募研究:富重らはモーター蛋白質キネシンが協調的な二足歩行運動を行う際に、前の頭部よりも後の頭部が先に解離(またはATP加水分解)する機構の解明を行った。ネックリンカーを切除するとATP加水分解速度がほとんど失われたことから、頭部とネックリンカーとの相互作用が ATP 加水分解に重要であるという仮説を実証した。同様にATP加水分解が低下するネックリンカー変異体 I325G の一分子蛍光観察やクライオ電顕の解析を行い、ネックリンカーと頭部の相互作用が ATP 加水分解を促進するモデルを立てることに成功した。清水らは、X線 1 分子計測法を用いて KcsA イオンチャンネルが閉状態から開状態の線維における準安定状態を捉えるため、中性条件(閉状態)で観測を開始し、観測中にトリガー光を照射することによって酸性 pH(開状態)へジャンプさせるシステムを構築した(図 2-3)。これによりKcsA チャンネルの閉状態から開状態への遷移過程を連続的に高速度で動画計測することに成功した(観測速度 1-5kHz)。七田らは、Alexa594 で蛍光標識したロドプシンを全反射蛍光顕微鏡で1分子観測し、メタロドプシンIとメタロドプシンIIの熱平衡に由来する蛍光の増減を観測した。さらに蛍光増減を定量化して、蛍光状態の高い状態の存在割合やその pH 依存性などから、一分子計測で観測された蛍光状態の高い状態が活性化状態であると結論づけた(図 2-4)。さらにロドプシンのアポ蛋白質であるオプシンや培養細胞上に発現させたロドプシンの1分子観測についても試みている。森井らは、カルシウム濃

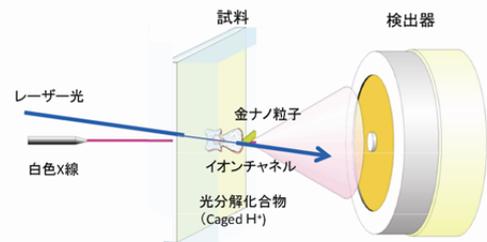


図2-3 カリウムチャンネルのpH依存的な構造変化を捉えるX線1分子計測法(清水)

度変化と連動したイノシトールポリリン酸類の濃度変化をリアルタイムで観測するため、PH ドメインを土台とした IP<sub>4</sub> センサーと Ca<sup>2+</sup>センサーもしくは IP<sub>3</sub> センサーと Ca<sup>2+</sup>センサーを HeLa 細胞内に導入し、これらの濃度変化を同時に検出した。この結果、IP<sub>3</sub> と Ca<sup>2+</sup> の算出が連動していることを確認すると共に、IP<sub>3</sub> と IP<sub>4</sub> の算出も連動していることを明らかにした(図 2-5、*Angew. Chem. Int. Ed.* 2010)。また、スプリット PH ドメインに cpGFP を融合した蛍光 IP<sub>4</sub> センサーの作製も行った。中瀬らは、高効率に形質膜を通過し、サイトゾル移行後にミトコンドリアに集積する性質を持つペプチド(MTD)を新たに見出した。MTD は比較的低濃度で形質膜通過およびミトコンドリア集積し、24 時間後にもミトコンドリアに局在することが明らかとなった。また、MTD の膜通過、ミトコンドリア集積にはペプチド二次構造が寄与していることを示した。古田らは超解像度顕微鏡で用いるための新しいケージドフルオロフォアの開発をすすめ、フロオレセインとローダミンの Bhc ケージド化合物への変換を検討し、Bhcmoc-caged fluorescein を合成した。また高解像度 in vivo イメージングを実現するため、ホタルルシフェリンを Bhc または Nmc で保護した Bhc-fLuciferin、Nmc-fLuciferin を合成した。

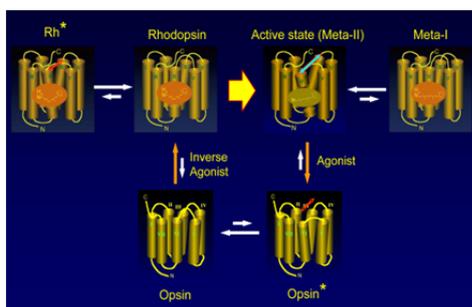


図2-4 GPCRロドプシンのMeta IとMeta II間の2状態平衡(七田)

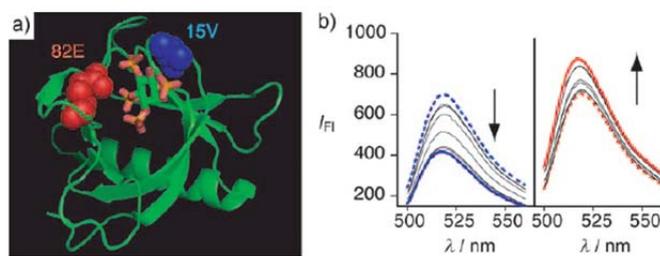


図2-5 細胞内IP<sub>4</sub>濃度をリアルタイム検出するためのIP<sub>4</sub>センサーの開発(森井)

**【研究項目 A03:生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析】**

計画研究: 白川らは、生細胞中のタンパク質の NMR シグナルの観測(in-cell NMR)を行い、ユビキチンアミド基の重水素交換速度が生細胞外と比較して加速していることを示した(図 3-1、*Nature* 2009)。次いで、<sup>19</sup>F 標識した FKBP12 や脂肪酸結合蛋白質 FABP4 を細胞内に導入し、<sup>19</sup>F をプローブとした in-cell NMR 観測を行った。その結果、リガンド結合に伴って相互作用部位周辺の化学シフト・線幅変化が観測され、<sup>19</sup>F NMR が細胞内の蛋白質間相互作用、構造、運動性の解析に適した手法になることを示した。また、細胞膜に形成されるタンパク質複合体の解析を目指して、ダイヤモンド微粒子に存在する窒素-格子欠陥を利用した新規磁気センサーの開発に成功した。早坂らはリンパ球および癌細胞において、CXCL12 ケモカイン(CXCR4 のリガンド)が、別のケモカイン受容体 CCR7 のリガンド (CCL19/CCL21) 応答性を促進することを明らかにした(図 3-2、*J Immunol.* 2009)。

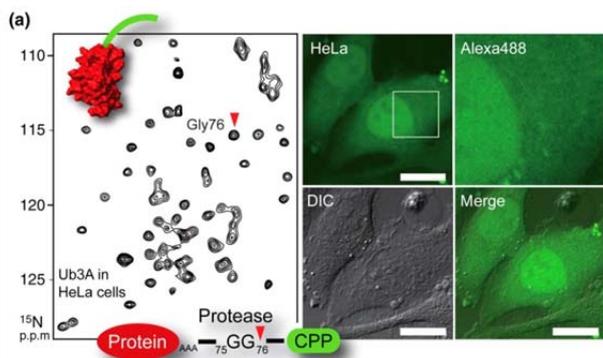


図3-1 CPPペプチドを利用してHeLa細胞内に導入したユビキチンのNMR観測(白川)

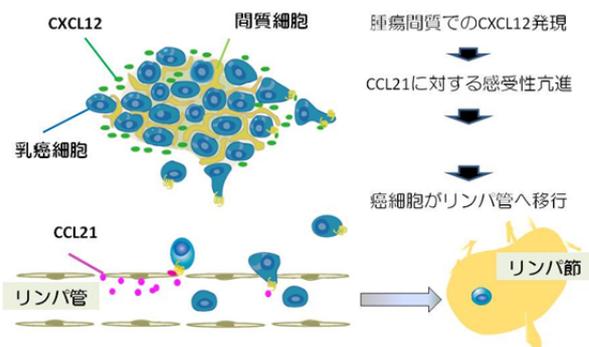


図3-2 CXCL12によるCCR7リガンド応答性亢進メカニズム(早坂)

公募研究:水野らは、生細胞内における G-アクチンの濃度変化をリアルタイムで観測し、定量化する技術を開発し、増殖因子による細胞運動時の G-アクチン濃度の変化を解析した。その結果、刺激後 2-3 分以下に G-actin 濃度は約 40%減少し、その後ラメラポディアの伸長が起こることを明らかにした(図 3-3, *J Cell Biol* 2011)。清水らは、ミトコンドリアを単離し膜透過性変化をリアルタイムでイメージングした。また、アポトーシス時とネクローシス時のミトコンドリアの形態変化を電子顕微鏡で取得することができた(図 3-4)。また、アポトーシス時のミトコンドリア変化に必要な Bak 分子の活性化を補足し、膜透過性を調節できる低分子化合物を探索するためのアッセイ系の確立に成功した。

Wong らは核膜複合体構成因子 Nup98-Hoxa9 タンパク発現が Rae1 発現の減少や異所局在を誘導することを見出し、Rae1 と Nup98 の正常な複合体形成が生体機能に重要であること、その異常は白血病化をもたらす可能性を明らかにした(*Cell Cycle* 2011)。また、バキュロウイルス昆虫細胞発現系により Rae1 を発現精製し、その構造解析に着手している。清中らは RIM1 と同様に  $Ca^{2+}$ チャネル  $\beta$  サブユニット相互作用蛋白質として同定した Munc18 に着目した研究を進め、 $Ca^{2+}$ チャネルは RIM1、Munc18、Syntaxin と競合的に結合し Ca チャネル活性を制御することで、神経伝達物質放出を制御している可能性を示唆した。我々は、RIM1 以外のサブタイプである RIM2-4 も、 $Ca^{2+}$ チャネルの活性制御に必須であることを見出した(*J Biol Chem* 2010)。西野らは、サルモネアのゲノムにコードされる薬剤排出ポンプ 9 個のうち、7 個が外膜タンパク質 TolC と共役して薬剤を排出していることを明らかにした(*J Antimicrob Chemother* 2010, 同 2011, *J Antibiot* 2011)。また、腸内細菌が産生するインドールや、薬剤排出蛋白質の基質である rhodamine 6G や ethidium 等により、RamR 制御因子を介して AcrAB-TolC 薬剤排出システムが誘導されるという機構を明らかにした(*Microb Pathog* 2010, *Microbiology* 2011)。児嶋らは、小胞膜貫通タンパク質 VAP-A と細胞内ステロール受容体 OSBP 複合体の NMR 解析を行い、OSBP の構造を持たない領域が VAP-A と非特異的に相互作用して中間複合体を形成し、その後、結合領域が構造をとると共に安定な複合体に移行するという“fly-casting”経路をとることを明らかにした(*J Biol Chem* 2009)。さらに、植物の花成ホルモンであるフロリゲンに関し、その活性化複合体の構造決定に成功した(*Nature* 2011)。

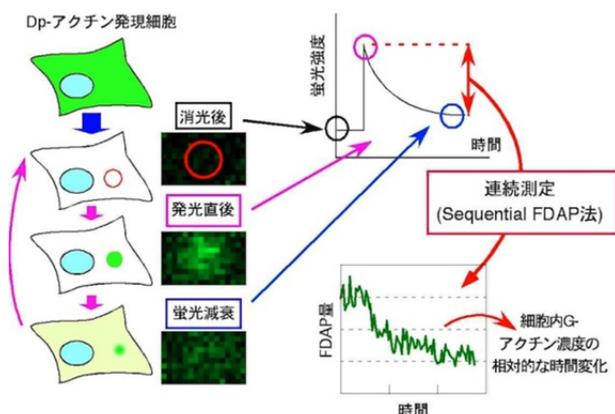


図3-3 FLAP法による細胞内G-アクチン濃度の計測(水野)

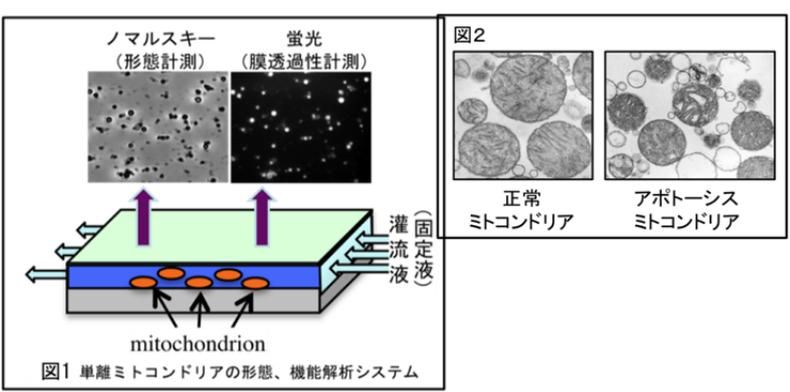


図3-4 ミトコンドリアの単離と電子顕微鏡による観測(清水)

## 7. 研究成果の公表の状況

### (1)論文等一覧について

現在までの総論文数は 216 (うち IF5 以上、86 報)報であった。

### 【研究項目 A01:準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構】

#### 計画研究

嶋田 一夫

- 1, \*I. Shimada, T. Ueda, M. Matsumoto, M. Sakakura, M. Osawa, K. Takeuchi, N. Nishida, \*H. Takahashi. Cross-saturation and transferred cross-saturation experiments. *Prog. Nuc. Magn. Reson. Spect.*, **54**, 123-140. (2009)
- 2, T. Sugiki, C. Yoshiura, Y. Kofuku, T. Ueda, \*I. Shimada and \*H. Takahashi. A High-throughput Screening of Optimal Solution Conditions for Structural Biological Studies with Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Protein Sci.*, **18**, 1115-1120. (2009)
- 3, K. Kato-Takagaki, Y. Mizukoshi, Y. Yoshizawa, D. Akazawa, Y. Torii, K. Ono, R. Tanimura, \*I. Shimada, and \*H. Takahashi. Structural and Interaction analysis of glycoprotein VI-binding peptide selected from phage display library. *J. Biol. Chem.*, **284**, 10720-7. (2009)
- 4, M. Yokogawa, T. Muramatsu, K. Takeuchi, M. Osawa, and \*I. Shimada. Backbone resonance assignments for the cytoplasmic regions of G protein-activated inwardly rectifying potassium channel 1 (GIRK1). *Biomolecular NMR Assignments*, **3**, 125-128. (2009)
- 5, J. Moriya, M. Sakakura, Y. Tokunaga, R. S. Prosser, \*I. Shimada. An NMR Method for the Determination of Protein Binding Interfaces using TEMPOL-Induced Chemical Shift Perturbations. *Biochim. Biophys. Acta*, **90**, 1368-1376. (2009)
- 6, S. Nakada, M. Sakakura, H. Takahashi, S. Okuda, H. Tokuda and \*I. Shimada. Structural investigation of the interaction between the periplasmic chaperone LolA and the outer membrane receptor LolB using NMR. *J. Biol. Chem.*, **284**, 24634-24643. (2009)
- 7, S. Ogino, S. Kubo, R. Umemoto, S. Huang, N. Nishida, \*I. Shimada. Observation of NMR signals from proteins introduced into living mammalian cells by reversible membrane permeabilization using a pore-forming toxin, Streptolysin O. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 10834-10835. (2009)
- 8, M. Osawa, M. Yokogawa, T. Muramatsu, T. Kimura, Y. Mase, and \*I. Shimada. Evidence for the direct interaction of spermine with inwardly rectifying potassium channel. *J. Biol. Chem.*, **284**, 26117-26126. (2009)
- 9, Y. Kofuku, C. Yoshiura, T. Ueda, H. Terasawa, T. Hirai, S. Tominaga, M. Hirose, Y. Maeda, H. Takahashi, Y. Terashima, K. Matsushima and \*I. Shimada. Structural Basis of the Interaction between Chemokine Stromal Cell-derived Factor-1/CXCL12 and Its G-protein-coupled Receptor CXCR4. *J. Biol. Chem.*, **284**, 35240-35250. (2009)
- 10, S. Igarashi, M. Osawa, S. Ozawa, \*I. Shimada. Backbone resonance assignments for the ligand binding subunit of the histidine permease complex (HisJ) from Escherichia coli, under histidine-bound and unbound states. *Biomol NMR Assign*, **4**, 17-20 (2010)
- 11, T. Sugiki, H. Takahashi, M. Nagasu, K. Hanada, \*I. Shimada. Real-time assay method of lipid extraction activity. *Anal Biochem.*, **399**, 162-7 (2010)
- 12, T. Nakamura, H. Takahashi, M. Takahashi, N. Shimba, E. Suzuki, \*I. Shimada. Direct determination of the insulin-insulin receptor interface using transferred cross-saturation experiments. *J Med Chem*, **53**, 1917-22 (2010)
- 13, K. Ono, H. Ueda, Y. Yoshizawa, D. Akazawa, R. Tanimura, \*I. Shimada, \*H. Takahashi. Structural basis for platelet antiaggregation by angiotensin II type 1 receptor antagonist losartan (DuP-753) via glycoprotein VI. *J Med Chem*, **53**, 2087-93 (2010)
- 14, S. Imai, M. Osawa, K. Takeuchi, \*I. Shimada. Structural basis underlying the dual gate properties of KcsA. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **107**, 6216-2111 (2010)
- 15, Y. Mizukoshi, M. Nagasu, \*I. Shimada, \*H. Takahashi. Precise structural determination of weakly binding peptides by utilizing dihedral angle constraints. *J Biomol NMR*, **46**, 299-305 (2010).
- 16, C. Yoshiura, Y. Kofuku, T. Ueda, Y. Mase, M. Yokogawa, M. Osawa, Y. Terashima, K. Matsushima, \*I. Shimada. NMR analyses of the interaction between CCR5 and its ligand using functional reconstitution of CCR5 in lipid bilayers. *J Am Chem Soc*, **132**, 6768-77 (2010)
- 17, M. Matsumoto, T. Ueda, I. Shimada. Theoretical analyses of the transferred cross-saturation method. *J Magn Reson*, **205**, 114-24

(2010)

18, S. Ogino, N. Nishida, R. Umemoto, M. Suzuki, M. Takeda, H. Terasawa, J. Kitayama, M. Matsumoto, H. Hayasaka, M. Miyasaka, \*I. Shimada. Two-state conformations in the hyaluronan-binding domain regulate CD44 adhesiveness under flow condition. *Structure*, **18**, 649-56 (2010)

19, L. Ruan, M. Osawa, N. Hosoda, S. Imai, A. Machiyama, T. Katada, S. Hoshino, \*I. Shimada. Quantitative characterization of Tob interactions provides the thermodynamic basis for translation termination-coupled deadenylase regulation. *J Biol Chem.*, **285**, 27624-31 (2010)

20, R. Umemoto, N. Nishida, S. Ogino, \*I. Shimada. NMR structure of the calponin homology domain of human IQGAP1 and its implications for the actin recognition mode. *J Biomol NMR.*, **48**, 59-64 (2010)

21, E. Kanamori, S. Igarashi, M. Osawa, Y. Fukunishi, I. Shimada, \*H. Nakamura. Structure determination of a protein assembly by amino acid selective cross-saturation. *Proteins*, **79**, 179-90 (2011)

22, M. Yokogawa, M. Osawa, K. Takeuchi, Y. Mase, \*I. Shimada. NMR Analyses of the G $\beta\gamma$  Binding and Conformational Rearrangements of the Cytoplasmic Pore of G Protein-activated Inwardly Rectifying Potassium Channel 1 (GIRK1). *J Biol Chem.*, **286**, 2215-23 (2011)

23, K. Takeuchi, M. Gal, H. Takahashi, I. Shimada, \*G. Wagner. HNCA-TOCSY-CANH experiments with alternate <sup>13</sup>C- <sup>12</sup>C labeling: a set of 3D experiment with unique supra-sequential information for mainchain resonance assignment. *J Biomol NMR.* **49**, 17-26 (2011).

24. Kodama Y, Reese ML, Shimba N, Ono K, Kanamori E, Dötsch V, Noguchi S, Fukunishi Y, Suzuki E, \*Shimada I. \*Takahashi H. Rapid identification of protein-protein interfaces for the construction of a complex model based on multiple unassigned signals by using time-sharing NMR measurements. *J Struct Biol.* **174**, 434-42 (2011)

#### 神田 大輔

1, S. Ichikawa, T. Takai, T. Yashiki, S. Takahashi, K. Okumura, H. Ogawa, D. Kohda, \*H. Hatanaka. Lipopolysaccharide binding of the mite allergen Der f 2. *Genes Cells.*, **14**, 1055-1065 (2009).

2, N. Maita, J. Nyirenda, M. Igura, J. Kamishikiryo, \*D. Kohda. Comparative structural biology of eubacterial and archaeal oligosaccharyltransferases. *J Biol Chem*, **285**, 4941-4950 (2010).

3, \*H. Masai, T. Tanaka, D. Kohda. Stalled replication forks: making ends meet for recognition and stabilization. *Bioessays*, **32**, 687-697 (2010).

4, A. Takano, N. Suetsugu, \*M. Wada, \*D. Kohda. Crystallographic and functional analyses of J-domain of JAC1 essential for chloroplast photorelocation movement in Arabidopsis thaliana. *Plant Cell Physiol*, **51**, 1372-1376 (2010).

5, H. Yamamoto, N. Itoh, S. Kawano, Y. Yatsukawa, T. Momose, T. Makio, M. Matsunaga, M. Yokota, M. Esaki, T. Shodai, D. Kohda, Hobbs AE, Jensen RE, \*T. Endo. Dual role of the receptor Tom20 in specificity and efficiency of protein import into mitochondria. *Proc Natl Acad Sci USA*, **108**, 91-96 (2011).

6, N. Suetsugu, A. Takano, \*D. Kohda, \*M. Wada. Structure and activity of JAC1 J-domain implicate the involvement of the cochaperone activity with HSC70 in chloroplast photorelocation movement. *Plant Signal Behav*, **5**, 1602-1606 (2010).

7, M. Igura, \*D. Kohda. Quantitative assessment of the preferences for the amino acid residues flanking archaeal N-linked glycosylation sites. *Glycobiology*. **21**, 575-583 (2011).

8, K. Mayanagi, S. Kiyonari, H. Nishida, M. Saito, D. Kohda, Y. Ishino, T. Shirai, \*K. Morikawa. Architecture of the DNA polymerase B-proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-DNA ternary complex. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **108**, 1845-1849 (2011).

9, M. Igura, \*D. Kohda. Selective control of oligosaccharide transfer efficiency for the N-glycosylation sequon by a point mutation in oligosaccharyltransferase. *J Biol Chem.* **286**, 13255-13260 (2011).

10, T. Saitoh, M. Igura, Y. Miyazaki, T. Ose, N. Maita, \*D. Kohda. Crystallographic snapshots of Tom20-mitochondrial presequence interactions with disulfide-stabilized peptides. *Biochemistry* in press (2011).

#### 公募研究

藤木 亮次

1, S. Sawatsubashi, T. Murata, J. Lim, R. Fujiiki, S. Ito, E. Suzuki, M. Tanabe, Y. Zhao, S. Kimura, S. Fujiyama, T. Ueda, D. Umetsu, T.

- Ito, K. Takeyama, \*S. Kato. A histone chaperone, DEK, transcriptionally coactivates a nuclear receptor. *Genes Dev.* **24**, 159-70. (2010)
- 2, T. Chikanishi, R. Fujiki, W. Hashiba, H. Sekine, A. Yokoyama, \*S. Kato. Glucose-induced expression of MIP1-genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* **394**, 865-70. (2010)
- 3, R. Matsuyama, I. Takada, A. Yokoyama, S. Fujiyama-Nakamura, N. Tsuji, H. Kitagawa, R. Fujiki, M. Kim, M. Kouzu-Fujita, T. Yano, \*S. Kato. Double PHD fingers protein DPF2 recognizes acetylated histones and suppress the function of estrogen-related receptor alpha through histone deacetylase 1. *J Biol Chem.* **285**, 18166-76. (2010)
- 4, A. Yokoyama, Y. Okuno, T. Chikanishi, W. Hashiba, H. Sekine, R. Fujiki, \*S. Kato. KIAA1718 is a histone demethylase that erases repressive histone methyl marks. *Genes Cells.* **15**, 867-73. (2010)
- 5, H. Kitagawa, R. Fujiki, K. Yoshimura, H. Oya, \*S. Kato, Williams syndrome is an epigenome-regulator disease. *Endocr J.* **58**, 77-85. (2011)
- 6, \*S. Kato, A. Yokoyama, R. Fujiki. Nuclear receptor coregulators merge transcriptional coregulation with epigenetic regulation. *Trends Biochem Sci.* **36**, 272-81. (2011)
- 7, \*S. Kato, R. Fujiki. Transcriptional controls by nuclear fat-soluble vitamin receptors through chromatin reorganization. *Biosci Biotechnol Biochem.* **75**, 410-3. (2011)

#### 塚崎 智也

- 1, T. Tsukazaki, H. Mori, Y. Echizen, R. Ishitani, S. Fukai, T. Tanaka, Perederina, A., Vassilyev, D.G., Kohno, T., Maturana, A.D., \*K. Ito, \*O. Nureki, Structure and function of a membrane component SecDF that enhances protein export. *Nature* **474**, 235-238. (2011).
- 2, 塚崎智也, 濡木理. タンパク質を膜透過させる分子装置. *化学工業* **62**, 471-477 (2011)

#### 須藤 雄気

- 1, D. Suzuki, H. Irieda, M. Homma, I. Kawagishi, \*Y. Sudo. Phototactic and chemotactic signal transduction by transmembrane receptors and transducers in microorganisms. *Sensors*, **10**, 4010-4039. (2010) [invited review]
- 2, 割石学, 本間道夫, \*須藤雄気. 光で動く微生物—ロドプシン分子による光受容と情報伝達機構 *OplusE* 特集: 光アクチュエーター, 519-524. (2010)
- 3, \*H. Kandori, Y. Sudo, Y. Furutani. Protein-protein interaction changes in an archaeal light-signal transduction. *J. Biomed. Biotechnol.*, **2010**, 424760-424774. (2010) [invited review]
- 4, 須藤雄気, ロドプシン研究はどこに行くのか?, *生物物理*, **50**, 160-161. (2010)
- 5, \*Y. Sudo, K. Ihara, S. Kobayashi, D. Suzuki, H. Irieda, T. Kikukawa, H. Kandori, M Homma. A microbial rhodopsin with a unique retinal composition shows both sensory rhodopsin II and bacteriorhodopsin-like properties. *J. Biol. Chem.* **286**, 5967-5976. (2011)
- 6, \*Y. Sudo, Y. Yuasa, J. Shibata, D. Suzuki, M. Homma. Spectral tuning in sensory rhodopsin I from *Salinibacter ruber*. *J. Biol. Chem.* **286**, 11328-11336. (2011)
- 7, M. Mizuno, <sup>+</sup>Y. Sudo, <sup>+</sup>M. Homma, \*Y. Mizutani. Direct observation of the structural change of Tyr174 in the primary reactions sensory rhodopsin II (+These authors contributed equally to this work). *Biochemistry* **50**, 3170-3180. (2011)
- 8, \*K. Inoue, Y. Sudo, M. Homma, H. Kandori. Spectrally silent intermediates during the photochemical reactions of *Salinibacter* sensory rhodopsin I. *J. Phys. Chem. B* **115**, 4500-4508. (2011)
- 9, H. Irieda, L. Reissig, A. Kawanabe, M. Homma, H. Kandori, \*Y. Sudo. Structural characteristics around the b-Ionone ring of the retinal chromophore in *Salinibacter* sensory rhodopsin I. *Biochemistry* **50**, 4912-4922. (2011)
- 10, \*Y. Sudo, R. Tanaka, T. Kobayashi, T. Kohno, \*C. Kojima. Functional expression of a two-transmembrane HtrII protein using cell-free synthesis. *Biophysics* in press (2011)
- 11, 須藤雄気, 井原邦夫, 本間道夫, 加茂直樹. 高度好塩性微生物の“目”: センサリロドプシンへの Cl<sup>-</sup>イオン結合の役割. *極限環境微生物学会誌* 印刷中 (2011)

#### 高木 淳一

- 1, H. Tanaka, T. Nogi, N. Yasui, K. Iwasaki, \*J. Takagi. Structural Basis for Variant-Specific Neuroligin-Binding by  $\alpha$ -Neurexin. *PLoS*

*One*, **6**, e19411. (2011)

- 2, 高木 淳一 動物細胞を用いる高難度タンパク質生産と迅速精製技術、*BIO INDUSTRY*、**28** (3), 7-13. (2011)
- 3, H. Nishimasu, S. Okudaira, K. Hama, M. Mihara, N. Dohmae, R. Ishitani, \*J. Takagi, \*J. Aoki, \*O. Nureki. Crystal structure of Autotaxin, a secreted lysophospholipase D that generates GPCR-signaling lipid mediator. *Nature Struct. Mol. Biol.* **18**, 205-212. (2011)
- 4, Z. Nakata, M. Nagae, N. Yasui, H. Bujo, T. Nogi, \*J. Takagi, Crystallization and preliminary crystallographic analysis of human LR11 Vps10p domain. *Acta Crystallographica.*, **F67**, 129-132. (2011)
- 5, T. Nogi, N. Yasui, E. Mihara, Y. Matsunaga, M. Noda, N. Yamashita, T. Toyofuku, Y. Goshima, A. Kumanogoh, \*J. Takagi. Structural basis for semaphorin signaling through the plexin receptor. *Nature* **467**, 1123-1127. (2010)
- 6, A. Kishimoto-Okada, S. Murakami, Y. Ito, N. Horii, H. Furukawa, J. Takagi, \*K. Iwasaki. Comparison of the envelope architecture of E. coli using two methods: CEMOVIS and cryo-electron tomography. *J. Electron Microsc.* **59**, 419-426. (2010)
- 7, N. Yasui, E. Mihara, M. Nampo, K. Tamura-Kawakami, H. Unno, K. Matsumoto, \*J. Takagi. Detection of endogenous LRP6 expressed on human cells by monoclonal antibodies specific for the native conformation. *J. Immunol. Methods* **352**, 153-160. (2010)
- 8, T. Sasaki, J. Takagi, C. Giudici, Y. Yamada, E. Arikawa-Hirasawa, Deutzmann, R., Timpl, R., Sonnenberg, A., Bächinger, H.P., Tonge, D. (2010) Laminin-121-Recombinant expression and interactions with integrins. *Matrix Biology* **29**, 484-493.
- 9, S. Tabata, M. Nampo, E. Mihara, K. Tamura-Kawakami, I. Fujii, \* J. Takagi. A rapid screening method for cell lines producing singly-tagged recombinant proteins using the "TARGET tag" system. *J. Proteomics.*, **73**, 1777-1785. (2010)
- 10, N. Yasui, T. Nogi, \*J. Takagi. Structural basis for specific recognition of reelin by its receptors. *Structure* **18**, 320-331. (2010)

#### 三島 正規

- 1, K. Furuita, Jee J, H. Fukada, M. Mishima, \* C. Kojima. Electrostatic interaction between oxysterol-binding protein and VAMP-associated protein A revealed by NMR and mutagenesis studies. *J Biol Chem.* **285**, 12961-70. (2010)
- 2, T. Ikeya, A. Sasaki, D. Sakakibara, Y. Shigemitsu, J. Hamatsu, T. Hanashima, M. Mishima, M. Yoshimasu, N. Hayashi, T. Mikawa, Nietispach D, Wälchli M, Smith BO, Shirakawa M, Güntert P, \*Y. Ito. NMR protein structure determination in living E. coli cells using nonlinear sampling. *Nat Protoc.* **5**, 1051-60. (2010)
- 3, A. Sato, M. Mishima, A. Nagai, Kim SY, Y. Ito, T. Hakoshima, Jee JG, \*K. Kitano. Solution structure of the HRDC domain of human Bloom syndrome protein BLM. *J Biochem.* **148**, 517-252(2010)
- 4, J. Inoue, T. Nagae, M. Mishima, Y. Ito, T. Shibata, \*T. Mikawa. A mechanism for SSB displacement from single-stranded DNA upon SSB-RecO interaction. *J Biol Chem.* **286**, 6720-32 (2011)
- 5, K. Kawasaki, M. Yoneyama, N. Murata-Kamiya, H. Harashima, C. Kojima, Y. Ito, H. Kamiya, \*M. Mishima. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR assignments of the Escherichia coli Orf135 protein. *Biomol NMR Assign.* Epub ahead of print, (2011)

#### 片平 正人

- 1, T. Nagata, E. Niyada, N. Fujimoto, Y. Nagasaki, K. Noto, Y. Miyanoiri, Murata, J., K. Hiratsuka, \*M. Katahira. Solution structures of the trihelix DNA-binding domains of the wild-type and a phosphomimetic mutant of Arabidopsis GT-1, implying a mechanism for an increase in DNA-binding affinity through phosphorylation, *Proteins*, **78**, 3033-3047. (2010).
- 2, \*M. Takeda, K. Kondo, M. Yamada, J. Koizumi, T. Mashima, A. Matsugami, M. Katahira. Solubilization and structural determination of a glycoconjugate which is assembled into the sheath of *Leptothrix cholodnii*, *Int. J. Biol. Macromol.*, **46**, 206-211. (2010).
- 3, R. Sugiyama, H. Nishitsuji, A. Furukawa, M. Katahira, Y. Habu, H. Takeuchi, A. Ryo, \*H. Takaku. Heat shock protein 70 inhibits HIV-1 Vif-mediated ubiquitination and degradation of APOBEC3G, *J. Biol. Chem.* **286**, 10051-10057.(2011).
- 4, S. Nakano, T. Mashima, A. Matsugami, M. Inoue, M. Katahira, \* T. Morii. Structural aspects for the recognition of ATP by ribonucleopeptide receptors, *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 4567-4579. (2011).
- 5, K. Kondo, \*M. Takeda, W. Ejima, Y. Kawasaki, T. Umezumi, M. Yamada, J. Koizumi, T. Mashima, M. Katahira. Study of a novel glycoconjugate, thiopeptidoglycan, and a novel polysaccharide lyase, thiopeptidoglycan lyase, *Int. J. of Biol. Macromol.*, **48**, 256-262. (2011).

6, 片平正人、日本化学会編、核酸化学のニュートレンドーDNA・RNAの新たな可能性を開くー(分担)、CSJ カレントレビュー、Vol. 6、印刷中、(2011)

#### 広常 真治

1, Pramparo, T., Youn, Y. H., Yingling, J., S. Hirotsune, \*Wynshaw-Boris, A. Novel embryonic neuronal migration and proliferation defects in Dcx mutant mice are exacerbated by Lis1 reduction. *J Neurosci* **30**, 3002-3012, (2010).

2, \*Wynshaw-Boris, A., Pramparo, T., Youn, Y. H., S. Hirotsune Lissencephaly: mechanistic insights from animal models and potential therapeutic strategies. *Semin Cell Dev Biol* **21**, 823-830, (2010).

3, M. Yamada, \*S. Hirotsune, Wynshaw-Boris, A. A novel strategy for therapeutic intervention for the genetic disease: preventing proteolytic cleavage using small chemical compound. *Int J Biochem Cell Biol* **42**, 1401-1407, (2010).

4, M. Yamada, \*S. Hirotsune, Wynshaw-Boris, A. The essential role of LIS1, NDEL1 and Aurora-A in polarity formation and microtubule organization during neurogenesis. *Cell Adh Migr* **4**, 180-184, (2010).

5, M. Yamada, S. Toba, T. Takitoh, Y. Yoshida, D. Mori, T. Nakamura, AH. Iwane, T. Yanagida, H. Imai, Yu-Lee LY, Schroer T, Wynshaw-Boris A, \*S. Hirotsune. mNUDC is required for plus-end-directed transport of cytoplasmic dynein and dynactins by kinesin-1. *EMBO J* **29**, 517-531, (2010).

6, M. Ibi, P. Zou, A. Inoko, T. Shiromizu, M. Matsuyama, Y. Hayashi, M. Enomoto, D. Mori, S. Hirotsune, T. Kiyono, S. Tsukita, H. Goto, \*M. Inagaki. Trichoplein controls microtubule anchoring at the centrosome by binding to Odf2 and ninein. *J Cell Sci* **124**, 857-864, (2011).

7, Pramparo T, Libiger O, Jain S, Li H, Youn YH, S. Hirotsune, Schork NJ, \*Wynshaw-Boris A. Global developmental gene expression and pathway analysis of normal brain development and mouse models of human neuronal migration defects. *PLoS Genet* **7**, e1001331, (2011).

8, T. Torisawa, A. Nakayama, K. Furuta, M. Yamada, S. Hirotsune, \*YY. Toyoshima. Functional dissection of LIS1 and NDEL1 towards understanding the molecular mechanisms of cytoplasmic dynein regulation. *J Biol Chem* **286**, 1959-1965, (2011).

#### 樋口 芳樹

1, K Yasuhira, N. Shibata, G. Mongami, Y. Uedo, Y. Atsumi, Y. Kawashima, A. Hibino, Y. Tanaka, Y-H. Lee, D. Kato, M. Takeo, \*Y. Higuchi, \*S. Negoro. X-ray Crystallographic Analysis of the 6-aminohexanoate Cyclic Dimer Hydrolase: Catalytic Mechanism and Evolution of an Enzyme Responsible for Nylon-6 Byproduct Degradation. *J. Biol. Chem.*, **285**, 1239-1248 (2010).

2, S. Terawaki, K. Kitano, T. Mori, Y. Zhai, Y. Higuchi, N. Itoh, T. Watanabe, K. Kaibuchi, T. \*Hakoshima. The PHCCEX Domain of Tiam1/2 is a Novel Protein- and Membrane-binding Module. *EMBO J.*, **29**, 236-250 (2010).

3, K. Nishikawa, Y. Shomura, S. Kawasaki, Y. Niimura and \*Y. Higuchi Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of NADH:rubredoxin Oxidoreductase from *Clostridium acetobutylicum*. *Acta Crystallogr.* **F66**, 23-25 (2010).

4, K. Nishikawa, Y. Shomura, S. Kawasaki, Y. Niimura, \*Y. Higuchi Crystal Structure of NADH:rubredoxin Oxidoreductase from *Clostridium acetobutylicum*: A Key Component of the Dioxxygen Scavenging System in Obligatory Anaerobes. *Proteins*, **78(4)**, 1066-1070 (2010).

5, H. Komori, D. Seo, T. Sakurai, \*Y. Higuchi Crystallization and Preliminary X-ray Studies of Ferredoxin-NADP<sup>+</sup> Oxidoreductase Encoded by *Bacillus subtilis* yumC. *Acta Crystallogr.* **F66**, 301-303 (2010).

6, K. Ichikawa, K. Nonaka, T. Matsumoto, B. Kure, K-S. Yoon, Y. Higuchi, T. Yagi, \*S. Ogo. Concerto Catalysis. Harmonising [NiFe] Hydrogenase and NiRu Model Catalysts. *Dalton Transactions*, **39**, 2993-2994 (2010).

7, Y. Kawashima, K. Yasuhira, N. Shibata, Y. Matsuura, Y. Tanaka, M. Taniguchi, Y. Miyoshi, M. Takeo, D. Kato, \*Y. Higuchi and \*S. Negoro. Enzymatic Synthesis of Nylon-6 units in Organic Solvent Contained Low-water: Structural Requirement of 6-aminohexanoate-dimer Hydrolase for Efficient Amide Synthesis. *J. Mol. Cat. B*, **64**, 81-88 (2010).

8, H. Komori and \*Y. Higuchi. Structure and Molecular Evolution of Multicopper Blue Proteins. *BIOMOLECULAR CONCEPTS*, **1**, 31-40 (2010).

9, \*N. Shibata, H. Tamagaki, S. Ohtsuki, N. Hieda, K. Akita, H. Komori, Y. Shomura, S. Terawaki, T. Toraya, N. Yasuoka and Y. Higuchi. Expression, Crystallization and Preliminary X-ray Crystallographic Study of Ethanamine Ammonia-lyase from *Escherichia coli*. *Acta Crystallogr.*, **F66**, 709-711 (2010).

- 10, \*N. Shibata, H. Tamagaki, N. Hieda, K. Akita, H. Komori, Y. Shomura, S. Terawaki, K. Mori, N. Yasuoka, Y. Higuchi, and T. \*T. Toraya. Crystal Structures of Ethanolamine Ammonia-lyase complexed with Coenzyme B<sub>12</sub> Analogs and Substrates. *J. Biol. Chem.*, **285**(34), 26484-26493 (2010).
- 11, \*S. Hirota, Y. Hattori, S. Nagao, M. Taketa, H. Komori, H. Kamikubo, Z. Wang, I. Takahashi, S. Negi, Y. Sugiura, M. Kataoka, Y. Higuchi. Cytochrome *c* polymerization by successive domain swapping at the C-terminal helix. *Pro. Natl. Acad. Sci.*, **107**(29), 12854-12859 (2010).
- 12, H. Ogata, Y. Shomura, A.G. Agrawal, A.P. Kaur, W. Gärtner, Y. Higuchi and \*W. Lubitz, Purification, Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of the Dissimilatory Sulfite Reductase from *Desulfovibrio vulgaris* Miyazaki F. *Acta Crystallogr.*, **F66**, 1470-1472 (2010).
- 13, M. Taketa, H. Komori, Y. Hattori, S. Nagao, S. Hirota and \*Y. Higuchi. Crystallization and Preliminary X-ray Analysis of Dimeric and Trimeric Cytochromes *c* from Horse Heart. *Acta Crystallogr.*, **F66**, 1477-1479 (2010).
- 14, H. Komori, \*D. Seo, T. Sakurai and \*Y. Higuchi. Crystal Structure Analysis of *Bacillus subtilis* Ferredoxin-NADP<sup>+</sup> Oxidoreductase and the Structural Basis for Its Substrate Selectivity. *Protein Science*, **19**(12), 2279-2290 (2010).
- 15, J. Kondo, H. Shibata, S. Miura, A. Yamakawa, K. Sato, Y. Higuchi, C. Shukunami, and \*Y. Hiraki. A Functional Role of the Glycosylated N-terminal Domain of Chondromodulin-I. *J. Bone Miner. Metab.*, **29**, 23-30(2011).
- 16, M. Michishita, A. Morimoto, T. Ishii, H. Komori, Y. Shiomi, Y. Higuchi and \*H. Nishitani. Positively Charged Domain Located Downstream of PIP Box, Together with TD Amino Acids within PIP Box, is Important for CRL4<sup>Cdt2</sup>-mediated Proteolysis. *Genes to Cells*, **16**, 12-22 (2011).
- 17, \*N. Shibata, Y. Higuchi and \*T. Toraya. How Coenzyme B<sub>12</sub>-dependent Ethanolamine Ammonialyase Deals with Both Enantiomers of 2-Amino-1-propanol as Substrates: Structure-based Rationalization. *Biochemistry*, **50**, 591-598 (2011).
- 18, T. Baba, K. Kamiya, T. Matsui, N. Shibata, Y. Higuchi, T. Kobayashi, S. Negoro and \*N. Shigetani. Molecular Dynamics Studies on Mutational Structures of a Nylon-6 Byproduct-degrading Enzyme. *Chem. Phys. Lett.*, **507**, 157-161 (2011).
- 19, S. Terawaki, K. Yano, T. Katsutani, K. Shiomi, K. Keino-Masu, M. Masu, Y. Shomura, H. Komori, N. Shibata and \*Y. Higuchi. Crystallographic Characterization of the DIX Domain of the Wnt Signalling Positive Regulator Ccd1. *Acta Crystallogr.*, in press
- 杉田 有治
- 1, Y. Sugita, M. Ikeguchi and C. Toyoshima, Insight into the relationship between Ca<sup>2+</sup>-affinity and shielding of bulk water in the Ca<sup>2+</sup>-pump from molecular dynamics simulations. *PNAS.*, **107**, 21465-21469. (2010)
- 2, S. Ahmad, H. Singh, Y. Paudel, T. Mori, Y. Sugita and K. Mizuguchi, Integrated prediction of one-dimensional equilibrium structural features and relationship with dynamic structure of helical membrane proteins, *BMC Bioinformatics.*, **11**, 533(2010).
- 3, T. Yoda, Y. Sugita, and Y. Okamoto, Hydrophobic core formation and dehydration in folding of villin headpiece subdomain studied by generalized-ensemble simulations. *Biophys. J.* **99**, 1637-1644. (2010)
- 4, J. Jung, Y. Sugita and S. Ten-no, Möller–Plesset perturbation theory gradient in the generalized hybrid orbital quantum mechanical and molecular mechanical method. *J. Chem. Phys.* **132**, 084106. (2010)
- 5, T. Imai and Y. Sugita, Dynamic Correlation between Pressure-Induced Protein Structural Transition and Water Penetration. *J. Phys. Chem. B* **114**, 2281-2286. (2010)
- 6, T. Mori, R. Ishitani, T. Tsukazaki, O. Nureki and Y. Sugita, Molecular Mechanisms Underlying the Early Stage of Protein Translocation through Sec Translocon. *Biochemistry.*, **49**, 945-950. (2010)
- 7, 杉田 有治, 京速コンピュータで実現する次世代の生命科学シミュレーション, *日本の科学者* Vol.45 No.12 December, 674-679. (2010)
- 8, T. Imai, N. Miyashita, Y. Sugita, A. Kovalenko, F. Hirata, and A. Kidera, “Functionality Mapping on Internal Surfaces of Multidrug Transporter AcrB Based on Molecular Theory of Solvation: Implications for Drug Efflux Pathway”, *J. Phys. Chem. B*, (2011) in press.
- 9, S. Yasuda, T. Yoshidome, Y. Harano, R. Roth, H. Oshima, K. Oda, Y. Sugita, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, “Free-Energy Function for Discriminating the Native Fold of a Protein from Misfolded Decoys”, *PROTEINS* (2011) in press.

## 【研究項目 A02:準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発】

### 計画研究

船津 高志

- 1, M. Yamagishi, Y. Shirasaki, \*T. Funatsu. Size-dependent accumulation of mRNA at the leading edge of chicken embryo fibroblasts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **390**, 750-754 (2009)
- 2, T. Sameshima, R. Iizuka, T. Ueno, \*T. Funatsu. Denatured proteins facilitate the formation of the football-shaped GroEL-GroES complex. *Biochem. J.* **427**, 247-254 (2010)
- 3, T. Sameshima, R. Iizuka, T. Ueno, J. Wada, M. Aoki, N. Shimamoto, I. Ohdomari, T. Tanii, \*T. Funatsu. Single-molecule study on the decay process of the football-shaped GroEL-GroES complex using zero-mode waveguides. *J. Biol. Chem.* **285**, 23159-23164 (2010)
- 4, K. Ozaki, H. Sugino, Y. Shirasaki, T. Aoki, T. Arakawa, \*T. Funatsu, \*S. Shoji. Microfluidic cell sorter with flow switching triggered by a sol-gel transition of a thermo-reversible gelation polymer. *Sensor Actuat. B-Chem.* **150**, 449-455 (2010)
- 5, H. Sugino, T. Arakawa, Y. Nara, Y. Shirasaki, K. Ozaki, S. Shoji, \*T. Funatsu. Integration in a multilayer microfluidic chip of 8 parallel cell sorters with flow control by sol-gel transition of thermoreversible gelation polymer. *Lab Chip* **10**, 2559-2565 (2010)
- 6, K. Okabe, Y. Harada, J. Zhang, H. Tadakuma, T. Tani, \*T. Funatsu. Real Time Monitoring of Endogenous Cytoplasmic mRNA Using Linear Antisense 2' O-methyl RNA Probes in Living Cells. *Nucleic Acids Res.* **34**, e20 (2011)
- 7, R. Iizuka, M. Yamagishi-Shirasaki, \*T. Funatsu. Kinetic study of de novo chromophore maturation of fluorescent proteins. *Anal. Biochem.* **414**, 173-178 (2011)

浜地 格

- 1, S. Uchinomiya, H. Nonaka, S. Fujishima, S. Tsukiji, A. Ojida, \*I. Hamachi. Site-Specific Covalent Labeling of His-tag Fused Proteins with a Reactive Ni(II)-NTA Probe. *Chem. Commun.*, **39**, 5880-5882 (2009)
- 2, Y. Takaoka, T. Sakamoto, S. Tsukiji, M. Narazaki, T. Matsuda, H. Tochio, M. Shirakawa, \*I. Hamachi. Self-assembling nano-probes displaying off/on 19F NMR signals for protein detection and imaging. *Nature Chemistry*, **1**, 557-561 (2009)
- 3, K. Kato, S. Kiyonaka, Y. Sawaguchi, M. Tohnishi, T. Masaki, N. Yasokawa, Y. Mizuno, E. Mori, K. Inoue, I. Hamachi, H. Takeshima, \*Y. Mori. Molecular Characterization of Flubendiamide Sensitivity in the Lepidopterous Ryanodine Receptor Ca<sup>2+</sup> Release Channel. *Biochemistry*, **48**, 10342-10352 (2009)
- 4, H. Nonaka, S. Fujishima, S. Uchinomiya, A. Ojida, \*I. Hamachi. FLAG-tag selective covalent protein labeling via a binding-induced acyl-transfer reaction. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **19**, 6696-6699 (2009)
- 5, A. Ojida, S. Fujishima, K. Honda, H. Nonaka, S. Uchinomiya, \*I. Hamachi. Binuclear NiII-DpaTyr Complex as a High Affinity Probe for an Aspartate Tag Tethered to Proteins. *Chem. Asian J.*, **5**, 877-886 (2010)
- 6, K. Mizusawa, Y. Ishida, Y. Takaoka, M. Miyagawa, S. Tsukiji, \*I. Hamachi. Disassembly-Driven Turn-On Fluorescent Nanoprobes for Selective Protein Detection. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 7291-7293 (2010)
- 7, H. Nonaka, S. Fujishima, S. Uchinomiya, A. Ojida, \*I. Hamachi. Selective Covalent Labeling of Tag-Fused GPCR Proteins on Live Cell Surface with a Synthetic Probe for Their Functional Analysis. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 9301-9309 (2010)
- 8, Y. Kurishita, T. Kohira, A. Ojida, \*I. Hamachi. Rational Design of FRET-Based Ratiometric Chemosensors for in Vitro and in Cell Fluorescence Analyses of Nucleoside Polyphosphates. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 13290-13299 (2010)
- 9, Y. Takaoka, Y. Sun, S. Tsukiji, \*I. Hamachi. Mechanisms of Chemical Protein 19F-Labeling and NMR-Based Biosensor Construction In Vitro and In Cells Using Self-Assembling Ligand-Directed Tosylate Compounds. *Chemical Science*, **2(3)**, 511-520 (2011)

### 公募研究

清水 啓史

- 1, M. Iwamoto, H. Shimizu, I. Muramatsu, S. Oiki. A cytotoxic peptide from a marine sponge exhibits ion channel activity through vectorial-insertion into the membrane. *FEBS Lett.* **584**, 3995-9. (2010)
- 2, S. Oiki, H. Shimizu, M. Iwamoto, T. Konno. Single Molecular Gating Dynamics for the KcsA Potassium Channel. *Advances in Chemical Physics.* **146** in press

#### 七田 芳則

- 1, K. Tsutsui, \*Y. Shichida. Multiple functions of Schiff base counterion in rhodopsins. *Photochem. Photobiol. Sci.* **9**, 1426-1434 (2010)
- 2, K. Sakai, Y. Imamoto, T. Yamashita, \*Y. Shichida. Functional analysis of the second extracellular loop of rhodopsin by characterizing split variants. *Photochem. Photobiol. Sci.* **9**, 1490-1497 (2010)
- 3, K. Tsutsui, \*Y. Shichida. Photosensitivities of rhodopsin mutants with a displaced counterion. *Biochemistry* **49**, 10089-10097 (2010)
- 4, M. Wakakuwa, A. Terakita, M. Koyanagi, Stavenga, D. G., Y. Shichida, \*K. Arikawa. Evolution and mechanism of spectral tuning of blue-absorbing visual pigments in butterflies. *PLoS One* **5**, e15015 (2010)
- 5 T. Yamashita, H. Ohuchi, S. Tomonari, K. Ikeda, K. Sakai, \*Y. Shichida. Opn5 is a UV-sensitive bistable pigment that couples with Gi subtype of G protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **107**, 22084-22089 (2010)
- 6, E. Kawano-Yamashita, M. Koyanagi, Y. Shichida, T. Oishi, S. Tamotsu, \*A. Terakita. Beta-arrestin functionally regulates the non-bleaching pigment parainopsin in lamprey pineal. *PLoS One* **6**, e16402 (2011)
- 7, A. Nakatsuma, T. Yamashita, K. Sasaki, A. Kawanabe, K. Inoue, Y. Furutani, Y. Shichida, \*H. Kandori. Chimeric microbial rhodopsins containing the third cytoplasmic loop of bovine rhodopsin. *Biophys. J.* **100**, 1874-1882 (2011)
- 8, M. Yanagawa, T. Yamashita, \*Y. Shichida. Comparative fluorescence resonance energy transfer analysis of metabotropic glutamate receptors: Implications about the dimeric arrangement and rearrangement upon ligand bindings. *J. Biol. Chem.* in press (2011)

#### 森井 孝

- 1, R. Sakaguchi, K. Tainaka, N. Shimada, S. Nakano, M. Inoue, S. Kiyonaka, Y. Mori, \*T. Morii. An in vitro fluorescent sensor reveals intracellular Ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> dynamics in single cells. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 2150-2153. (2010)
- 2, S. Nakano, T. Mashima, A. Matsugami, M. Inoue, M. Katahira, \*T. Morii. Structural Aspects for the Recognition of ATP by Ribonucleotide Receptors. *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 4567-79. (2011)

#### 中瀬 生彦

- 1, I. Nakase, S. Kobayashi, \*S. Futaki. Endosome-disruptive peptides for improving cytosolic delivery of bioactive macromolecules. *Biopolymers.*, **94**, 763-770 (2010)
- 2, K. Shimane, E. N. Kodama, \*I. Nakase, S. Futaki, Y. Sakurai, Y. Sakagami, X. Li, T. Hattori, S. G. Sarafianos, M. Matsuoka. Rev-derived peptides inhibit HIV-1 replication by antagonism of Rev and a co-receptor, CXCR4. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.*, **42**, 1482-1488 (2010).
- 3, H. Yukawa, H. Noguchi, \*I. Nakase, Y. Miyamoto, K. Oishi, N. Hamajima, S. Futaki, S. Hayashi. Transduction of cell-penetrating peptides into induced pluripotent stem cells. *Cell Transplant.*, **19**, 901-909 (2010).
- 4, R. Miyamoto, H. Akizawa, T. Nishikawa, T. Uehara, Y. Azuma, I. Nakase, S. Futaki, H. Hanaoka, Y. Iida, K. Endo, \*Y. Arano. Enhanced target-specific arginine-rich peptides as anchoring molecules. *Bioconjug. Chem.*, **21**, 2031-2037 (2010).
- 5, I. Nakase, K. Kogure, H. Harashima, \*S. Futaki. Application of a fusigenic peptide GALA for intracellular delivery. *Methods Mol. Biol.*, **683**, 525-533 (2011).

#### 古田 寿昭

- 1, S. Yamaguchi, Y. Chen, S. Nakajima, T. Furuta, \*T. Nagamune, Light-activated gene expression from site-specific caged DNA with a biotinylated photolabile protection group, *Chem. Commun.* **46**, 2244--2246, (2010)
- 2, A. Shigenaga, J. Yamamoto, Y. Sumikawa, T. Furuta, \*A. Otaka, Development and photo-sensitive peptide bond cleavage reaction of two-photon near infrared excitation-responsive peptide, *Tetrahedron Lett.* **51**, 2868-2871 (2010)
- 3, S. Mizukami, M. Hosoda, T. Satake, S. Okada, Y. Hori, T. Furuta, K. Kikuchi\*, Photocontrolled Compound Release System Using Caged Antimicrobial Peptide, *J. Am. Chem. Soc.* **132**, 9524-9525 (2010)

#### 【研究項目 A03:生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析】 計画研究

##### 白川 昌宏

- 1, T. Takaoka, T. Sakamoto, S. Tsukiji, M. Narazaki, T. Matsuda, H. Tochio, M. Shirakawa, \*I. Hamachi, Self-assembling nano-probes

displaying off/on 19F NMR signals for protein detection and imaging. *Nature Chemistry*, **1**,557-561 (2009)

2, J. Otani, T. Nankumo, K. Arita, S. Inamoto, \*M. Ariyoshi, \*M. Shirakawa. Structural basis for recognition of H3K4 methylation status by the DNMT3A ADD domain. *EMBO report* **10**, 1235-1241 (2009).

3, S. Mizukami, H. Matsushita, R. Takikawa, F. Sugihara, M. Shirakawa, \*K. Kikuchi, 19F MRI Detection of  $\beta$ -Galactosidase Activity for Imaging of Gene Expression. *Chem. Sci.*, **2**, 1151-1155 (2011)

4, K. Mizusawa, R. Igarashi, K. Uehira, Y. Takafuji, Y. Tabata, H. Tochio, \*M. Shirakawa, \*S. Sando, \*Y. Aoyama. Turn-on Detection of Targeted Biochemical Reactions by Triple Resonance NMR Analysis Using Isotope-labeled Probe *Chemistry Letters*, **39**, 926-928. (2010)

5, T. Ikeya, A. Sasaki, D. Sakakibara, Y. Shigemitsu, J. Hamatsu, T. Hanashima, M. Mishima, M. Yoshimasu, N. Hayashi, T. Mikawa, Nietlispach D, Wälchli M, Smith BO, M. Shirakawa, Güntert P, \*Y. Ito. NMR protein structure determination in living E. coli cells using nonlinear sampling. *Nature Protcol.* **5**, 1051-1060 (2010)

6, D. Morimoto, S. Isogai, H. Tochio, M. Shirakawa, \*M. Ariyoshi, Crystallization and preliminary crystallographic studies of K48-linked polyubiquitin chains. *Acta Crystallographica Section F* **66**, 834-7 (2010).

7, H. Ohnishi, H. Tochio, \*Z. Kato, T. Kimura, H. Hiroaki, N. Kondo, M. Shirakawa,  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{15}\text{N}$  resonance assignment of the TIR domain of human MyD88. *Journal of biomolecular assignment* (E pub ahead of print in 2010).

8, R. Igarashi, T. Sakai, H. Hara, T. Tenno, T. Tanaka, \*H. Tochio, \*M. Shirakawa, Distance Determination in Proteins inside *Xenopus laevis* Oocytes by Double Electron-Electron Resonance Experiments. *Journal of the American Chemical Society* **132**, 8228-8229 (2010).

9, N. Iwaya, Y. Kuwahara, Y. Fujiwara, N. Goda, T. Tenno, K. Akiyama, M. Mase, H. Tochio, T. Ikegami, M. Shirakawa, \*H. Hiroaki, A common substrate recognition mode conserved between katanin P60 and VPS4 governs microtubule severing and membrane skeleton reorganization. *Journal of Biological Chemistry* **285**, 16822-16829 (2010)

10, \*Jee, J.G., T. Mizuno, K. Kamada, T. Tochio, Y. Chiba, K. Yanagi, G. Yasuda, H. Hiroaki, \*F. Hanaoka, M. Shirakawa, Structure and mutagenesis studies of the C-terminal region of licensing factor Cdt1 enable to identify the key residues for binding to replicative helicase Mcm proteins. *Journal of Biological Chemistry* **285**, 15931-15940 (2010).

11, N. Sekiyama, K. Arita, Y. Ikeda, K. Hashiguchi, M. Ariyoshi, H. Tochio, H. Saitoh, \*M. Shirakawa, Structural basis for regulation of poly-SUMO chain by a SUMO-like domain of Nip45. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **78**, 1491-1502 (2010).

12, S. Isogai, S. Kanno, M. Ariyoshi, H. Tochio, Y. Ito, A. Yasui, \*M. Shirakawa, Solution structure of a zinc-finger domain that binds to poly-ADP-ribose. *Genes to Cells* **15**, 101-110 (2010).

早坂 晴子

1, 宮坂昌之、梅本英司、早坂晴子、田中稔之、リンパ球の動態を制御する分子機構、*リンパ学*, 32, 44-48 (2009)

2, 宮坂昌之、梅本英司、早坂晴子、田中稔之、リンパ球の動態制御機構 *関西実験動物研究会会報* **31**:25-34 (2009)

3, T. Onodera, Jang MH, Guo Z, M. Yamasaki, T. Hirata, Bai Z, NM. Tsuji, D. Nagakubo, O. Yoshie, S. Sakaguchi, O. Takikawa, \*M. Miyasaka. Constitutive expression of IDO by dendritic cells of mesenteric lymph nodes: functional involvement of the CTLA-4/B7 and CCL22/CCR4 interactions. *J. Immunol.* **183**, 5608-5614 (2009)

4, S. Ogino, N. Nishida, R. Umemoto, M. Suzuki, M. Takeda, H. Terasawa, J. Kitayama, M. Matsumoto, H. Hayasaka, M. Miyasaka, \*I. Shimada. Two-state conformations in the hyaluronan-binding domain regulate CD44 adhesiveness under flow condition. *Structure.* **18**, 649-656 (2010)

5, \*H. Hayasaka, K. Taniguchi, S. Fukai, M. Miyasaka. **Neogenesis and development of the high endothelial venules that mediate lymphocyte trafficking.** *Cancer Sci.* **101**, 2302-2308 (2010)

6, \*早坂 晴子、宮坂 昌之、癌の進展、転移に関するリンフォイドケモカイン、*実験医学* **29**, 119-124 (2011)

7, E. Umemoto, H. Hayasaka, Bai Z, Cai, L., S. Yonekura, Peng, X., A. Takeda, K. Tohya, \*M. Miyasaka. Review: Novel regulators of lymphocyte trafficking across high endothelial venules. *Crit. Rev. Immunol.*, **31**,147-169 (2011)

公募研究  
水野 健作

- 1, T. Tsuji, Y. Ohta, Y. Kanno, K. Hirose, K. Ohashi, \*K. Mizuno. Involvement of p114-RhoGEF and Lfc in Wnt-3a- and Dishevelled-induced RhoA activation and neurite retraction in N1E-115 mouse neuroblastoma cells. *Mol. Biol. Cell*, **21**, 3590-3600 (2010).
- 2, Garg, P., Verma, R., Cook, L., Soofi, A., Venkatareddy, M., George, B., K. Mizuno, Gurniak, C., Witke, W., \*Holzman, L. B. Actin depolymerizing factor cofilin-1 is necessary in maintaining mature podocyte architecture. *J. Biol. Chem.*, **285**, 22676-22688 (2010).
- 3, Xiao, K., Sun, J., Kim, J., Rajagopal, S., Zhai, B., Villen, J., Haas, W., Kovacs, J. J., Shukla, A. K., Hara, M., Hernandez, M., Lachmann, A., Zhao, S., Lin, Y., Cheng, Y., K. Mizuno, Ma'ayan, A., Gygi, S. P., \*Lefkowitz, R. J. Global phosphorylation analysis of  $\beta$ -arrestin-mediated signaling downstream of a seven transmembrane receptor (7TMR). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **107**, 15299-15304 (2010).
- 4, G. Itoh, S. Kanno, K. S. K. Uchida, S. Chiba, S. Sugino, K. Watanabe, K. Mizuno, A. Yasui, T. Hirota, \*K. Tanaka. CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator of kinetochore-microtubule attachment. *EMBO J.*, **30**, 130-144 (2011).
- 5, T. Kiuchi, T. Nagai, K. Ohashi, \*K. Mizuno. Measurements of spatiotemporal changes in G-actin concentration reveal its effect on stimulus-induced actin assembly and lamellipodium extension. *J. Cell Biol.*, **193**, 365-380 (2011).

#### 清水 重臣

- 1, A. Mouri, Y. Noda, S. Shimizu, Y. Tsujimoto, \*T. Nabeshima. The role of cyclophilin D in learning and memory. *Hippocampus* ., **20**, 293-304 (2010)
- 2, \*S. Shimizu, A. Konishi, Y. Nishida, T. Mizuta, H. Nishina, A. Yamamoto, Y. Tsujimoto. Involvement of JNK in the regulation of autophagic cell death. *Oncogene.*, **29**, 2070-2082 (2010)
- 3, A. Nabeyama, A. Kurita, K. Asano, Y. Miyake, T. Yasuda, I. Miura, G. Nishitai, S. Arakawa, S. Shimizu, S. Wakana, H. Yoshida, \*M. Tanaka. xCT deficiency accelerates chemically induced tumorigenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **107**, 6436-6441 (2010)
- 4, K. Ideguchi, S. Shimizu, M. Okumura, \*Y. Tsujimoto. Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition is not involved in neurodegeneration in mnd2 mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **393**, 264-267 (2010)
- 5, \*S. Shimizu, S. Arakawa, Y. Nishida. Autophagy takes an alternative pathway. *Autophagy* **6.2**, 290-291 (2010)
- 6, K. Kamiya, K. Tsumoto, S. Arakawa S. Shimizu, I. Morita, T. Yoshimura, \*K. Akiyoshi. Preparation of connexin43-integrated giant Liposomes by a baculovirus expression-liposome fusion method. *Biotechnol. Bioeng.*, **107**, 836-843 (2010)
- 7, T. Yoshida, T. Mizuta, \*S. Shimizu. Neurodegeneration in mnd2 mutant mice is not prevented by parkin transgene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **402**, 676-679 (2010)
- 8, M. Narita, AR. Young, S. Arakawa, SA. Samarajiwa, T. Nakashima, S. Yoshida, S. Hong, LS. Berry, S. Reichelt, M. Ferreira, S. Tavaré, K. Inoki, S. Shimizu, \*M. Narita. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. *Science* **332**, 966-970 (2011)
- 9, Y. Yoshioka, \*S. Shimizu, T. Ito, M. Taniguchi, M. Nomura, T. Nishida, Y. Sawa. p53 Inhibits Vascular *Endothelial Growth Factor Expression in Solid Tumor: J Surg Res.* (2011) *in press*
- 10, H. Hikita, \*T. Takehara, T. Kodama, S. Shimizu, M. Shigekawa, A. Hosui, T. Miyagi, T. Tatsumi, H. Ishida, W. Li, T. Kanto, N. Hiramatsu, S. Shimizu, Y. Tsujimoto, N. Hayashi. Delayed-onset caspase-dependent massive hepatocyte apoptosis upon Fas activation in Bak/Bax-deficient mice. *Hepatology* (2011) *in press*

#### Richard Wong

- 1, \*Wong RW. Interaction between Rae1 and Cohesin subunit SMC1 is required for proper spindle formation. *Cell Cycle.*, **9**, 198-200 (2010)
- 2, H. Nakano, T. Funasaka, C. Hashizume, \*Wong RW. Nucleoporin Tpr associates with dynein complex preventing chromosome lagging formation. *J. Biol. Chem.* **285**, 10841-10849 (2010)
- 3, \*Wong RW. An update on cohesin function as a "molecular glue" on chromosomes and spindles. *Cell Cycle.*, **9**, 1754-1758 (2010)
- 4, C. Hashizume, H. Nakano, K. Yoshida, \*Wong RW. Characterization of the role of the tumor marker Nup88 in mitosis. *Mol. Cancer.*, **9**, 119 (2010)

5, H. Nakano, Wang W, C. Hashizume, T. Funasaka, H. Sato, \*Wong RW. Unexpected role of nucleoporins in coordination of cell cycle progression. *Cell Cycle*. **10**,425-433 (2011)

6, T. Funasaka, \*Wong RW. The role of nuclear pore complex in tumor microenvironment and metastasis. *Cancer Metastasis Rev*. **30**, 239-251 (2011)

7, T. Funasaka, H. Nakano, Wu Y, C. Hashizume, Gu L, T. Nakamura, Wang W, Zhou P, Moore MA, H. Sato, \*Wong RW. RNA export factor RAE1 contributes to NUP98-HOXA9-mediated leukemogenesis. *Cell Cycle* **10**,1456-1467 (2011)

8, 橋爪智恵子, \*Wong RW. 有糸分裂期における核膜孔複合体タンパク質の予想外の機能. *生化学* in press

9, 橋爪智恵子, \*Wong RW. 核膜孔複合体タンパク質 Nup88. *生体の科学* in press

#### 清中 茂樹

1, H. Watanabe, T. Yamashita, N. Saitoh, S. Kiyonaka, A. Iwamatsu, Campbell KP, Y. Mori, \*T. Takahashi. Involvement of Ca<sup>2+</sup> channel synprint site in synaptic vesicle endocytosis. *J. Neurosci*. **30**, 655-660 (2010).

2, R. Sakaguchi, K. Tainaka, N. Shimada, S. Nakano, M. Inoue, S. Kiyonaka, Y. Mori, \*T. Morii. An in vivo fluorescent sensor reveals intracellular ins(1,3,4,5)P<sub>4</sub> dynamics in single cells. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **49**, 2150-2153 (2010).

3, T. Numaga, M. Nishida, S. Kiyonaka, K. Kato, M. Katano, E. Mori, T. Kurosaki, R. Inoue, M. Hikida, Putney JW Jr, \*Y. Mori. Ca<sup>2+</sup> influx and protein scaffolding via TRPC3 sustain PKCbeta and ERK activation in B cells. *J. Cell. Sci.* **123**, 927-938 (2010).

4, H. Kinoshita, \*K. Kuwahara, M. Nishida, Jian Z, Rong X, S. Kiyonaka, Y. Kuwabara, H. Kurose, R. Inoue, Y. Mori, Li Y, Y. Nakagawa, S. Usami, M. Fujiwara, Y. Yamada, T. Minami, K. Ueshima, K. Nakao. Inhibition of TRPC6 channel activity contributes to the antihypertrophic effects of natriuretic peptides-guanylyl cyclase-A signaling in the heart. *Circ. Res.* **106**, 1849-1860 (2010).

5, Y. Uriu, S. Kiyonaka, T. Miki, M. Yagi, S. Akiyama, E. Mori, A. Nakao, Beedle AM, Campbell KP, M. Wakamori, Y. Mori. Rab3-interacting molecule gamma isoforms lacking the Rab3-binding domain induce long lasting currents but block neurotransmitter vesicle anchoring in voltage-dependent P/Q-type Ca<sup>2+</sup> channels. *J. Biol. Chem.* **285**, 21750-21767 (2010).

6, Kim MS, Lee KP, Yang D, Shin DM, Abramowitz J, S. Kiyonaka, Birnbaumer L, Mori Y, \*Muallem S. Genetic and Pharmacologic Inhibition of the Ca<sup>2+</sup> Influx Channel TRPC3 Protects Secretory Epithelia From Ca<sup>2+</sup>-Dependent Toxicity. *Gastroenterology* **140** 2107-2115 (2011).

7, Weiss N, Sandoval A, S. Kiyonaka, Felix R, Mori Y, \*De Waard M. Rim1 modulates direct G-protein regulation of Ca<sub>v</sub>2.2 channels. *Pflugers Arch.* **461**, 447-459 (2011).

8, N. Kitajima, K. Watanabe, S. Morimoto, Y. Sato, S. Kiyonaka, M. Hoshijima, Y. Ikeda, M. Nakaya, T. Ide, Y. Mori, H. Kurose, \*M. Nishida. TRPC3-mediated Ca<sup>2+</sup> influx contributes to Rac1-mediated production of reactive oxygen species in MLP-deficient mouse hearts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **409**, 108-113 (2011).

9, \*Y. Mori, T. Kajimoto, A. Nakao, N. Takahashi, S. Kiyonaka. Receptor Signaling Integration by TRP Channelsomes. *Transient receptor potential channels*, 373-389, Springer, 2011.

10, T. Numata, S. Kiyonaka, K. Kato, N. Takahashi, \*Y. Mori. Activation of TRP channels in mammalian systems. *TRP channels*, 43-90, CRC press, 2011.

#### 西野 邦彦

1, J. Yamada, S. Yamasaki, H. Hirakawa, M. Hayashi-Nishino, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. Impact of the RNA chaperone Hfq on multidrug resistance in Escherichia coli. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **65**, 853-858 (2010)

2, \*K. Nishino, S. Yamasaki, M. Hayashi-Nishino, A. Yamaguchi. Effect of NlpE overproduction on multidrug resistance in Escherichia coli. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **54**, 2239-2243 (2010)

3, H. Hirakawa, M. Hayashi-Nishino, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. Indole enhances acid resistance in Escherichia coli. *Microbial Pathogenesis*, **49**, 90-94 (2010)

4, T. Horiyama, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. TolC dependency of multidrug efflux systems in Salmonella enterica serovar Typhimurium. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **65**, 1372-1376 (2010)

5, T. Horiyama, E. Nikaido, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. Roles of Salmonella multidrug efflux pumps in tigecycline resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **66**, 105-110 (2011)

- 6, \*K. Nishino, S. Yamasaki, M. Hayashi-Nishino, A. Yamaguchi. Effect of overexpression of small non-coding DsrA RNA on multidrug efflux in Escherichia coli. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **66**, 291-296 (2011)
- 7, E. Nikaïdo, I. Shirotsuka, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. Regulation of AcrAB multidrug efflux pump in Salmonella enterica serovar Typhimurium in response to indole and paraquat. *Microbiology*, **157**, 648-655 (2011)
- 8, Y. Matsumoto, K. Hayama, S. Sakakihara, K. Nishino, H. Noji, \*R. Iino, A. Yamaguchi. Evaluation of multidrug efflux pump inhibitors by a new method using microfluidic channels. *PLoS one*, **6**, e18547 (2011)
- 9, S. Yamasaki, S. Nagasawa, M. Hayashi-Nishino, A. Yamaguchi, \*K. Nishino. AcrA dependency of the AcrD efflux pump in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Antibiotics*, in press (2011)

児嶋 長次郎

- 1, T. Oda, H. Hashimoto, N. Kuwabara, S. Akashi, K. Hayashi, C. Kojima, H. L. Wong, T. Kawasaki, K. Shimamoto, M. Sato, \*T. Shimizu. The structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications. *J. Biol. Chem.*, **285**, 1435-1445 (2010)
- 2, K. Furuita, J.G. Jee, H. Fukada, M. Mishima and \*C. Kojima. Electrostatic interaction between oxysterol binding protein and VAMP-associated protein-A revealed by NMR and mutagenesis studies. *J. Biol. Chem.*, **285**, 12961-12970 (2010).
- 3, K. Hayashi and \*C. Kojima. Efficient protein production method for NMR using soluble protein tags with cold shock expression vector. *J. Biomol. NMR*, **48**, 147-155 (2010).
- 4, K. Furuita, S. Murata, J.G. Jee, S. Ichikawa, A. Matsuda, \*C. Kojima. Structural feature of bent DNA recognized by HMGB1. *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 5788-5790 (2011).
- 5, \*Y. Sudo, R. Tanaka, T. Kobayashi, N. Kamo, T. Kohno, \*C. Kojima. Functional expression of a two-transmembrane HtrII protein using cell-free synthesis. *Biophysics*, **7**, 51-58 (2011).
- 6, K. Kawasaki, M. Yoneyama, N. Murata-Kamiya, H. Harashima, C. Kojima, Y. Ito, H. Kamiya, \*M. Mishima. <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR assignments of the *Escherichia coli* Orf135 protein. *Biomol. NMR Assign.*, in press (2011).
- 7, K. Taoka, I. Ohki, H. Tsuji, K. Furuita, K. Hayashi, T. Yanase, M. Yamaguchi, C. Nakashima, Y. A. Purwestri, S. Tamaki, Y. Ogaki, C. Shimada, A. Nakagawa, \*C. Kojima, \*K. Shimamoto. 14-3-3 proteins act as intracellular receptors for rice Hd3a florigen. *Nature*, in press (2011).

## (2)ホームページについて

HPには、班会議や領域主催のシンポジウムの開催案内を随時アップデートしており、領域から出された成果(論文リスト)を公開している。その他、領域の研究概要、研究組織、公募要領、研究成果、ニュースレター発行案内なども掲載し、班員の意思統一および外部への情報発信を図っている。

HPのURLは [http://ishimada.f.u-tokyo.ac.jp/public\\_html/tmc/](http://ishimada.f.u-tokyo.ac.jp/public_html/tmc/)である。

## (3)公開発表について

昨年度および本年度は成果の公開の効果的手段として、多くの研究者が集まる規模の大きい学会で、シンポジウム、ワークショップ企画提案を行い、下記リストのごとく集会を開催した。また、日本生化学会の学会誌「生化学」2011年10月号に本領域で企画した特集記事を掲載し、日本生化学学会員に領域の成果を公開する。また、若手育成活動として、ワークショップを共催した。なお、班員が受けた国内外の招待講演は、下記リストのように、国外59件、国内89件であった。。

## シンポジウムおよびワークショップ

### ■日本蛋白質科学会 第10回年会

平成22年6月16日(水)16:00~18:30、札幌コンベンションセンター 800人

## ■第49回NMR 討論会

平成 22 年 11 月 15 日(月), 16 日(火), 17 日(水)、タワーホール船堀

## ■日本化学会第91回春季年会(震災のため中止、発表は成立)

平成 23 年 3 月 27 日(土)、神奈川大学

## ■新学術領域研究「過渡的複合体」公開シンポジウム(予定)

平成 23 年 7 月 21 日(木)東京大学

■先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第1回研修会・2010 年 12 月 2-4 日・琵琶湖リゾートクラブ(守山市)・約 30 名

■先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第1回研修会(追加研修会)・2011 年 1 月 20-22 日・大阪大学蛋白質研究所(吹田市)・約 30 名

■先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第2回研修会・2011 年 2 月 4-9 日・大阪大学蛋白質研究所(吹田市)&理化学研究所横浜研究所 NMR 施設(横浜市)・約 60 名

■先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第3回研修会・2011 年 6 月 2-4 日・琵琶湖リゾートクラブ(守山市)・約 40 名。

## 国内外の招待講演

### 【研究項目 A01:準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構】

嶋田 一夫

1. 第一回シグナルネットワーク研究会、東京 2009 年 5 月 29 日、200 名

2. INPEC 2009, Itamambuca, Brasil 2009 年 10 月 26 日、100 名

3. Structural biology seminar, Vanderbilt University, US, 2009 年 11 月 18 日、50 名

4. EMP、東京、2010 年 1 月 9 日、40 名

5. 「構造と機能を基盤とした膜蛋白質研究から覗く未来への展望」、大阪、2010 年 1 月 19 日、100 名

6. NEDO 特別講座シンポジウム、東京、2010 年 3 月 9 日、100 名

7. COLD SPRING HARBOR ASIA CONFERENCES, Suzhou, China, 2010 年 5 月 13 日 200 名

8. 第 10 回日本蛋白質科学会年会、札幌、2010 年 6 月 16 日、800 名

9. EUROMAR/ISMAR, Florence, Italy, 2010 年 7 月 6 日、700 名

10. Symposium on Structure and Folding of Disease Related Proteins, Seoul National University, Korea, 2010 年 7 月 10 日、100 名

11. 日本学術振興会、回折構造生物学第 169 委員会、第 32 回研究会、2010 年 7 月 20 日、50 名

12. 大阪大学蛋白質研究所セミナー、大阪、2010 年 7 月 29 日、100 名

13. 第 34 回阿蘇シンポジウム、熊本、2010 年 7 月 30 日

14. ICMRBS, Cairns, Queensland, Australia, 2010 年 8 月 23 日、700 名

15. Frankfurt University seminar, Frankfurt, Germany, 2010 年 9 月 6 日、50 名

16. 日本分光学会 NMR 分光部会シンポジウム、東京、2010 年 9 月 8 日、100 名

17. The 2nd International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR, Yokohama, 2010 年 9 月 30 日、150 名

18. INPEC2010, Uppsala, Sweden, 2010 年 10 月 8 日、100 名

19. Technische Universität München/Helmholtz Zentrum München seminar, München, Germany, 2010 年 10 月 6 日、50 名

- 20, Max Planck Institute seminar, Göttingen, Germany, 2010年10月8日、50名
- 21, Functional Proteomics & KIST Symposium, Seoul, Korea, 2011年6月9日、100名
- 22, 第11回日本蛋白質科学会、大阪、2011年6月9日、50名
- 神田 大輔
- 1, The 3rd Asia-Pacific NMR Symposium, 2009.10.25-28, Jeju Island, Korea, 300.
  - 2, The 5th Global COE International Symposium Cell Cycle and Differentiation, 2010.2.24, Singapore, 150.
  - 3, 第10回日本蛋白質科学会年会, ワークショップ「過渡的複合体の視点から生命現象を捉えなおす」, 2010.6.16-18, 札幌, 800.
  - 4, The Joint Symposium of the 5th International Symposium of Institutes Network and the International Symposium Commemorating Inauguration of Kanazawa University Cancer Research Institute (第5回研究所ネットワーク国際シンポジウム), 2010.6.25, Kanazawa, 150
  - 5, The 25th International Carbohydrate Symposium, 2010.8.1-6, Makuhari, Tokyo, 1000
  - 6, 蛋白研セミナー:「蛋白質の機能-構造相関解明のための精密構造解析とその方法 ~水素原子から細胞まで~」, 2010.10.7, 大阪, 100
  - 7, 理研シンポジウム第14回「生体分子の化学」, 2011.1.21, 和光, 埼玉, 100
  - 8, 準安定なタンパク質複合体から構造情報を得るための戦略 日本化学会第91春季年会特別企画講演, 2011.3.26, 横浜
  - 9, Comparative structural biology of archaeal and eubacterial oligosaccharyltransferases. IX European Symposium of The Protein Society “Wonders and Disasters of the Protein World”, 2011.5.22-26, Stockholm, Sweden, 400
- 塚崎 智也
- 1, The 3rd International Symposium on Protein Community・2010.9.13-16, ホテル日航奈良(奈良県)・約250
  - 2, 第48回日本生物物理学会年会・2010.9.20-22, 東北大学川内キャンパス(宮城県), 約1500
- 須藤 雄気
- 1, 14th International Conference on Retinal Proteins, 2010/8/3, Santa Cruz, USA, ~200
  - 2, 第50回生物物理若手の会夏の学校, 2010.9.4, 一宮、愛知、日本、~100
  - 3, 第2回光操作研究会, 2010.9.9, 岡崎、愛知、日本、~150
  - 4, 生理学研究所研究会, 2010.9.17, 岡崎、愛知、日本、~60
  - 5, GCOE/Structural Biology Research Center International Symposium: Protein structure and dynamics; from molecules to assembly, 2010.11.24, 名古屋、愛知、~100
  - 6, 日本薬学会第131年会, 2011.3.29, 静岡、日本、~5000
- 高木 淳一
- 1, 第11回日本蛋白質科学会年会、シンポジウム“生命機能を原子分子レベルで探る—細胞システムレベルでの蛋白質科学をめざして—”2011.6.7、大阪
  - 2, University of Torino, IRCC., 2011.5.6, Torino, Italy, 30
  - 3, Gordon Research Conference (Fibronectin, Integrins & Related Molecules), 2011.5.1, Il Ciocco, Italy, 169
  - 4, 平成22年度ターゲットタンパク研究プログラム 公開シンポジウム「ターゲットタンパク研究から見える未来4」, 2011.3.11、東京、約100
  - 5, 平成23年度細胞外環境シンポジウム、2011.2.16、京都、約10
  - 6, International GCOE Symposium: Morphogenesis and Signaling -From Proteins, Organelles to Organisms-, 2010.11.9, Hyogo, Japan, 約50
  - 7, The 2010 Asian Crystallographic Association Conference (AsCA2010), Minisymposium “Combining Methods/New Tools in Structural Biology”, 2010.11.2, Busan, South Korea, 約100
  - 8, 蛋白研セミナー・包括脳ネットワーク神経細胞プロテオミクス研究会「神経科学と構造生物学の融合」、2010.10.28、蛋白研講堂、約80

9, crystallography, and EM, Faculty Seminar, Boston University School of Medicine, Department of Physiology and Biophysics, 2010.8.25, Boston, USA, 約 30 人

10, The Bioprocessing Summit "Affinity Tag Protein Purification", 2010.8.23-26, Boston Marriott Long Wharf, Boston, USA, 約 90

11, Gordon Research Conference (Lipoprotein metabolism), 2010.6.23, Waterville Valley, USA, 148

12, 第 10 回日本蛋白質科学会年会、ワークショップ 2010.6.18、札幌, 約 50

片平 正人

1, International Symposium of Korean Society of Biochemistry and Molecular Biology -Structural Biology and Drug Discovery-, 2010.5.18, Seoul, 300

2, 大阪大学タンパク質研究所セミナー, 2010.7.29, 大阪, 80

3, 第 50 回生物物理若手の会 夏の学校, 2010.9.5, 一宮, 100

4, 第 120 回生存圏研究所オープンセミナー, 2010.9.15, 京都, 40

5, The 10th KIAS Conference on Protein Structure and Function, 2010.10.1, Seoul, 70.

6, 第 58 回日本ウイルス学会学術集会, 2010.11.8, 徳島, 400

7, Korea-Japan Bilateral NMR Symposium, 2010.11.26, Seoul, 50

8, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2010.12.15, Hawaii, 100.

9, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2010.12.16, Hawaii, 100

10, Research seminar at Chinese University of Hong Kong, 2011.3.21, Hong Kong, 20

広常 真治

1, 国際脳発達・奇形・神経障害シンポジウム, 2010.10.1, パリ(フランス), 300

2, 熊本大学特別講演, 2010.12.21, 熊本大学医学部, 200

杉田 有治

1, 第 10 回日本蛋白質科学会年会, 2010.6, 札幌

2, 第 10 回日本蛋白質科学会年会, 2010.6, 札幌,

3, シンポジウム「分子アンサンブル 2010」, 2010. 11.和光,

4, 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会 (BMB2010), 2010. 12.神戸

## **【研究項目 A02:準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発】**

船津 高志

1, 第 10 回日本蛋白質科学会年会、2010.6.16.-18.、札幌コンベンションセンター、札幌市、北海道、150.

2, 日本化学会第 91 回春季年会、2011.3.26-2、神奈川大学横浜キャンパス、横浜市、神奈川県

3, Trilateral Symposium on NanoBio Integration, 2010.9.30-10.3, the Institute für Chemie and Biochemie, Berlin, Germany, 100

4, 4th Annual Symposium on Nanobiotechnology "New Directions in Nanotheranostics: Imaging, Biosensor, Materials, DNA-nanotechnologies" 2010.10.6-8, Ludwig Maximilian University, Faculty for Chemistry and Pharmacy, Grosshadern Campus, Munich, Germany, 200

5, 理研・分子研合同シンポジウム 第 11 回エクストリームフォトニクス研究 2010.10.12-1, 理化学研究所鈴木梅太郎ホール、和光市、埼玉県、100

6, 日本化学会関東支部講演会「ナノバイオテクノロジー」,2010.10.28、日本化学会7階ホール、千代田区、東京都、100

7, Screening Asia, 2010.11.15-16, Matrix Building, Biopolis, Singapore、150

浜地 格

1, 5th iCeMS International Symposium, 2009.7.27-28, Clock Tower Centennial Hall, Kyoto ,200

- 2, Asian Chemical Congress, 2009.9.14-16, Shanghai, CHINA, 約 1000
- 3, 2009 China-Japan Symposium on Advanced Organic Chemistry, 2009.11.27-29, Shanghai, CHINA 約 60
- 4, International Symposium of Joint Research Network on Advanced Materials and Devices "Chou", 2010.3.25-26, Hotel-Nidom, Hokkaido 約 250
- 5, 1st Asian Chemical Biology Conference, 2010.6.25-27, Seoul National University, KOREA, 約 40
- 6, 25th international Carbohydrate Symposium, 2010.8.1-6, Makuhari Messe, Tokyo, 約 800
- 7, The 5th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference, 2010.11.1-5, The Ambassador Hotel Kaohsiung, TAIWAN, 約 400
- 8, 5th International Peptide Symposium, 2010.12.4-9, Kyoto International Conference Center, Kyoto, 約 800 名
- 9, Pacificchem 2010, 2010.12.15-20, Hawaii Convention Center, USA, 約 7000
- 10, The 5th International Workshop on Approaches to Single-Cell Analysis, 2011.3.3-4, The Takeda Hall, The University of Tokyo, Tokyo, 約 230
- 11, 第 82 回日本生化学会, 2009.10.21-24, 神戸ポートアイランド神戸国際展示場, 約 2000.
- 12, 第 9 回放射性医薬品・画像診断薬研究会, 2009.11.14, 京都大学薬学部記念講堂, 約 150
- 13, 第 3 回名古屋大学化学系 G-COE セミナー, 2009.11.30-12.1, 名古屋大学 約 150.
- 14, 第 4 回公開シンポジウム, 2010.3.3-4, 自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンター, 約 100
- 15, 日本化学会第 90 春季年会, 2010.3.26-29, 近畿大学 約 8000.
- 16, 28 回物性物理化学研究会, 2010.6.4, 京都大学薬学部記念講堂 約 120.
- 17, 第 10 回日本蛋白質科学会年会, 2010.6.16-18, 札幌コンベンションセンター, 約 500.
- 18, 第 4 回高度医療都市を創出する未来技術国際シンポジウム, 2011.2.8, 岡山大学大学院 約 100.

#### 富重 道雄

- 1, 名古屋大学工学研究科テクノ・シンポジウム「生物物理の未来研究会」、2010.9.11、名古屋大学ベンチャービジネスラボラトリー、100
- 2, 1st Korea University - The University of Tokyo Joint Workshop、2011.2.23、東京大学、150 名

#### 七田 芳則

- 1, 「医工連携ネットワーク形成」に関する講演会、2010.12.14、徳島大学、70

#### 森井 孝

- 1, 1st Asian Chemical Biology Conference, 2010.6.27, Seoul National University, 50
- 2, Pacificchem 2010, 2010.12.19, Hawaii Convention Center,

#### 中瀬 生彦

- 1, 岡山大学 若手異分野連携体セミナー, 2010.6.18, 岡山大学、60
- 2, 第 13 回ペプチドフォーラム, 2010.9.18, 京都薬科大学、80
- 3, 第 37 回 岡山脳セミナー、第 2 回生体制御科学専攻系セミナー, 2010. 10.9, 岡山大学、50
- 4, ハイペップ研究所 2010 年紅葉ワークショップ, 2010.12.3, ハイペップ研究所京都本社、50.
- 5, Global COE Symposium JAPAN-CANADA Joint Health Research Program "Biomembrane and Channels", 2010.12.10, Kyoto Century Hotel, 60.

#### 古田 寿昭

- 1, BMB2010 (第 33 回日本分子生物学会年会, 第 83 回日本生化学会大会 合同大会), 2010.12, 神戸
- 2, 日本化学会第 91 春季年会, 2011.3, 神奈川

## 【研究項目 A03:生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析】

早坂 晴子

1, 日本タンパク質科学会, 2011.6.16 日, 札幌

水野 健作

1, International Symposium on Cell Cycle and Cell Differentiation, 2010. 11. 4-11.6, Nagoya, 約 50

清水 重臣

1, Parkinson Disease and mitophagy, 2011.6.11, 東京, 100.

2, Gordon Conference, 2010.4.25-30, Italy, 200

3, The 6th Institute network symposium, 2010.6.24-25, Kanazawa, 100

4, 第 19 回日本 Cell Death 学会, 2010.7.30-8.1, 名古屋, 100

5, Molecular Cardiovascular Conference II, 2010.9.3-5, 小樽, 100

6, 第 53 回日本放射線影響学会, 2010.10.20, 京都, 400.

7, 第 33 回日本分子生物学会年会, 2010.12.7-10, 神戸, 5000

8, 彩都産学官連携シンポジウム, 2011.1.26-27, 豊中, 150

Richard Wong

1, 日本分子生物学会第 11 回春季シンポジウム/金沢国際がん生物学シンポジウム, 2011.5.25, 金沢, 350

西野 邦彦

1, ASM American Society for Microbiology 110th General Meeting, 2010.5.25, San Diego, USA, 約 200.

2, 第 58 回日本化学療法学会総会, 2010.6.4, 長崎, 約 100.

3, 平成 22 年度産学官連携推進会議, 2010.6.5, 京都, 約 100.

4, Einladung zum Kolloquium at Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2010.10.15, Halle, Germany, 約 100.

5, 日本薬学会第 131 年会, 2011.3.29, 静岡

児嶋 長次郎

1, 第 10 回日本蛋白質科学会年会ワークショップ「膜蛋白質の機能構造研究の最前線」, 2010.6.16-18, 札幌コンベンションセンター(札幌市), 約 600

2, 第 5 回関西 NMR 理論研究会, 2010.6.24-27, 岡山いこいの村(瀬戸市), 13.

3, 蛋白質研究所セミナー「超高磁場が拓く生体系 NMR: 最新技術と応用」, 2010.7.29-30, 大阪大学蛋白質研究所(吹田市), 約 100.

4, 平成 22 年度日本分光学会 NMR 分光部会シンポジウム, 2010.9.9, 東京大学薬学部講堂(東京都文京区), 約 100.

5, 先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第 1 回研修会, 2010.12.2-4, 琵琶湖リゾートクラブ(守山市), 約 30.

6, 先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第 1 回研修会(追加研修会), 2011.1.20-22, 大阪大学蛋白質研究所(吹田市), 約 30.

7, 先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第 2 回研修会, 2011.2.4-9, 大阪大学蛋白質研究所(吹田市)&理化学研究所横浜研究所 NMR 施設(横浜市), 約 60.

8, よこはま NMR 構造生物学研究会第 41 回ワークショップ「最先端 NMR 技術で切り拓く構造生物学の未来」, 2011.3.2, 理化学研究所横浜研究所交流棟ホール(横浜市), 約 100.

9, 先導的若手 NMR スペシャリスト育成プログラム第 3 回研修会, 2011.6.2-4, 琵琶湖リゾートクラブ(守山市), 約 40.

10, 第 11 回日本蛋白質科学会年会ワークショップ「磁気共鳴の高感度化が拓く生体内蛋白質計測の未来」, 2011.6.7-9, ホテル阪急エキスポパーク(吹田市), 約 600.

11, 名古屋大学大学院理学研究科セミナー, 2010.5.20, 名古屋大学東山キャンパス(名古屋市), 約 100.

12, 第 10 回蛋白質科学会年会, 2010.6.16-18, 札幌コンベンションセンター(札幌市), 約 600

13. 蛋白質研究所セミナー「超高磁場が拓く生体系NMR:最新技術と応用」, 2010.7.29-3, 大阪大学蛋白質研究所(吹田市), 約100.
14. 平成22年度日本分光学会 NMR 分光部会シンポジウム, 2010.9.9, 東京大学薬学部講堂(東京都文京区), 約100.
15. IPR retreat, 2010.11.29-30, Awaji Yumebutai International Conference Center (Awaji), 約300.
16. Pacificchem 2010, 2010.12.18-20, Hawaii Convention Center (Honolulu, USA), 約10,000.
17. 第44回光学五学会関西支部連合講演会「光でみる生体情報」, 2011.1.29, 大阪市立大学交流文化センター(大阪市), 約100.
18. よこはま NMR 構造生物学研究会第41回ワークショップ「最先端 NMR 技術で切り拓く構造生物学の未来」, 2011.3.2, 理化学研究所横浜研究所交流棟ホール(横浜市), 約100.

#### (4)「国民との科学・技術対話」について

大学へ見学に来る高校生(修道館高校および熊本高校など)に対する講演で、本領域のコンセプトを説明し、科学に対する興味を持ってもらうようにしている。また、計画班員の船津は下記市民講座で研究内容を紹介する予定である。

「バイオルミネッセンスとバイオイメージング」

時: 2011年8月31日(水)、場所: 千歳市民文化センター中ホール

<http://www.ambs2011.com/ambs/opensymposim.html>

講演タイトル「1分子イメージングによってわかるタンパク質の働き」

## 8. 研究組織と各研究項目の連携状況

本領域の総括班および計画、公募研究の体制を以下に示す。

総括班	氏名	所属	総括班における役割
研究代表者	嶋田 一夫	東京大学・大学院薬学系研究科	各研究項目の調整、統括
研究分担者	神田 大輔	九州大学・生体防御医学研究所	事務連絡責任者
連携研究者	船津 高志	東京大学・大学院薬学系研究科	研究方針の企画担当
連携研究者	浜地 格	京都大学・大学院工学研究科	研究交流・シンポジウム担当
連携研究者	白川 昌宏	京都大学・大学院工学研究科	若手育成担当
連携研究者	森川 耿右	大阪大学・蛋白質研究所	研究方針の企画担当
連携研究者	早坂 晴子	大阪大学・大学院医学系研究科	広報担当
連携研究者	阿久津 秀雄	大阪大学・蛋白質研究所	評価、助言
連携研究者	稲垣 冬彦	北海道大学・大学院先端生命科学研究所	評価、助言
連携研究者	宮坂 昌之	大阪大学・大学院医学系研究科	評価、助言
連携研究者	西村 善文	横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科学研究科	評価、助言

**【研究項目 A01:準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構】**

	氏名	所属・役職	研究課題名
計画	嶋田一夫	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	準安定的に形成される受容体・リガンド複合体間の相互作用解析
計画	神田大輔	九州大学・生体防御医学研究所・教授	準安定な分子認識解明のためのテザー係留法の開発と細胞内仕分けシグナル識別への応用
公募	藤木亮次	東京大学・分子細胞生物学研究所・助教	転写を制御する核内糖修飾シグナルの試験管内解析
公募	塚崎智也	東京大学・大学院理学系研究科・助教	Secトランスロコンを含む過渡的複合体の構造生物学
公募	須藤雄気	名古屋大学・大学院理学系研究科・准教授	全反射型赤外分光法による過渡的複合体の解析
公募	高木淳一	大阪大学・蛋白質研究所・教授	神経シナプスにおける接着複合体の準安定な二次元クラスター形成
公募	三島正規	首都大学東京・理工学研究科・准教授	常磁性緩和効果を利用した準安定な複合体の構造解析
公募	片平正人	京都大学・エネルギー理工学研究科・教授	DNA上の極性を有したスライディングとカップルした塩基変換酵素反応の解析
公募	広常真治	大阪市立大学・大学院医学系研究科・教授	細胞質ダイニンのアイドリング複合体の構造解析と活性化メカニズムの解明
公募	樋口芳樹	兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・教授	Wntシグナル伝達系因子の離合集散を制御するDIXドメインの構造生物学
公募	杉田有治	理化学研究所・基幹研究所・研究員	タンパク質複合体形成のダイナミクスと分子認識機構の解明

**【研究項目 A02:準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発】**

	氏名	所属・役職	研究課題名
計画	船津高志	東京大学・大学院薬学系研究科・教授	超高解像度 1 分子蛍光顕微鏡の開発と細胞膜受容体の情報伝達機構の1分子解析
計画	浜地格	京都大学・大学院工学研究科・教授	準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発
公募	富重道雄	東京大学・大学院工学系研究科・准教授	一分子FRET法による分子モータータンパク質の動的複合体形成過程の観察
公募	清水啓史	福井大学・医学部・講師	エックス線1分子計測法によるイオンチャネル準安定状態の観測

公募	七田芳則	京都大学・大学院理学研究科・教授	1 分子観測によるGタンパク質共役型受容体の二状態モデルの検討
公募	森井孝	京都大学・エネルギー理工学研究所・教授	単一細胞内セカンドメッセンジャー代謝動態のリアルタイム計測
公募	中瀬生彦	京都大学・化学研究所・助教	膜透過ペプチドと対イオンを用いた準安定状態を探るセンサー分子の効率的な細胞内導入
公募	古田寿昭	東邦大学・理学部・教授	高解像度 1 分子観察を可能にするケミカルプローブの開発

### 【研究項目 A03:生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析】

	氏名	所属・役職	研究課題名
計画	白川昌宏	京都大学・大学院工学研究科・教授	In situ 計測による脂質、膜受容体の活性化機構の解明
計画	早坂晴子	大阪大学・医学系研究科・助教	細胞動態における分子構造の遷移と機能発動
公募	水野健作	東北大学・大学院生命科学研究科・教授	アクチン繊維と結合蛋白質の過渡的複合体形成の可視化
公募	清水重臣	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・教授	ミトコンドリア膜上に一過性に形成される過渡期細胞死孔の捕捉
公募	R. Wong	金沢大学・フロンティアサイエンス機構・准教授	Rae1-Nup98 の準安定状態複合体間の相互作用解析に関する探索
公募	清中茂樹	京都大学・大学院工学研究科・助教	神経伝達物質放出における Ca <sup>2+</sup> チャネルを中心とした過渡的複合体形成の分子基盤
公募	西野邦彦	大阪大学・産業科学研究所・准教授	マルチコンポーネント型薬剤排出ポンプの機能と複合体形成機構の解明
公募	児嶋長次郎	大阪大学・蛋白質研究所・准教授	In situ 膜タンパク質NMR検出技術

共同研究に関しては、全体班会議での発表・討論および総括班会議での調整を通して研究者同士の連携を図った。班会議は研究項目ごとに行うのではなく、全員が集まる全体班会議を開催し、それぞれが研究発表を行った。また、研究項目間で研究者が議論できるようプログラム編成を工夫した。その結果、下記のリストに示すように 23 件の共同研究が発足した。

本研究領域では、計画研究および公募研究の研究代表者として、方法論のための方法論を研究する研究者ではなく、ライフサイエンスにおいて重要な系に対しての問題意識を持ち、かつ方法論を研究する研究者に多く参画していただいている。その結果、計画・公募研究班内外の共同研究が進んでいると考える。また、特徴としては、異なる研究項目間、特に公募研究間での共同研究が多いことである。これは、研究者にとって、「知りたい情報ではあるがどのような手法を適応したら良いか不明」ということが、本領域により解消されつつあ、領域の方向性が妥当であったことを実証するものとする。

## 現在進行中および計画されている(斜体)領域内共同研究

### 計画—計画間

A01 嶋田—A03 早坂: CD44 のローリング解析、CD44 高親和性変異体の癌転移能の解析

A01: 嶋田—A02 浜地—A03 早坂: リアクティブタグ報を利用した CXCR4、CCR7 の生細胞イメージング

A02 浜地—A03 白川: 特定の蛋白質を検出する <sup>19</sup>F NMR/MRI プローブの開発

### 計画—公募間

A01 神田—A01 杉田: Tom20-プレ配列複合体の動的平衡認識モデルの計算機シミュレーション

A02 浜地—A03 清中(計): 細胞表層受容体の可視化に関する研究

A02 浜地—A03 児嶋: NMR では検出できない低濃度領域で特異的なタンパク質-薬剤相互作用を、高感度 NMR プローブによって構造学的に解析する研究

A03 白川—A01 杉田: 分子混雑環境下でのタンパク質ダイナミクスと水和の関係

A03 白川—A03 Wong: 核膜孔複合体因子 Rae1 とそのさまざまな相互作用因子との複合体の構造・機能解析

### 公募—公募間

A01 藤木—A01 三島: 構造から得られた SHARP SPOCドメインを介する転写制御能に関する知見の細胞内解析

A01 塚崎—A01 須藤: SecDF の陽イオン透過機構の全反射型赤外分光解析

A01 塚崎—A01 杉田: MD シミュレーションによるタンパク質膜透過機構の解析

A01 須藤—A02 七田: 新規光受容体 MR における G タンパク質活性化能の解析

A01 須藤—A03 児嶋: 無細胞タンパク質合成系による、2回膜貫通型タンパク質 HtrII の機能的発現  
2成分調節系シグナル伝達分子の NMR 解析

A01 高木—A01 杉田: インテグリンの金属イオン結合部位の MD シミュレーション

A01 片平—A02 森井: RNP(リボヌクレオペプチド)アプタマーによる ATP 捕捉メカニズムの解明

A01 樋口—A03 水野: 「Dishevelled の構造—活性相関」について

A01 樋口—A03 清水: ミトコンドリア病とシトクロム c のオリゴマー化の関係

A02 森井—A03 清中: 細胞内カルシウムシグナルと細胞内 IP4 濃度変化の関連

A02 中瀬—A03 清水: 電子顕微鏡を用いた膜透過ペプチドの細胞内局在に関する検討

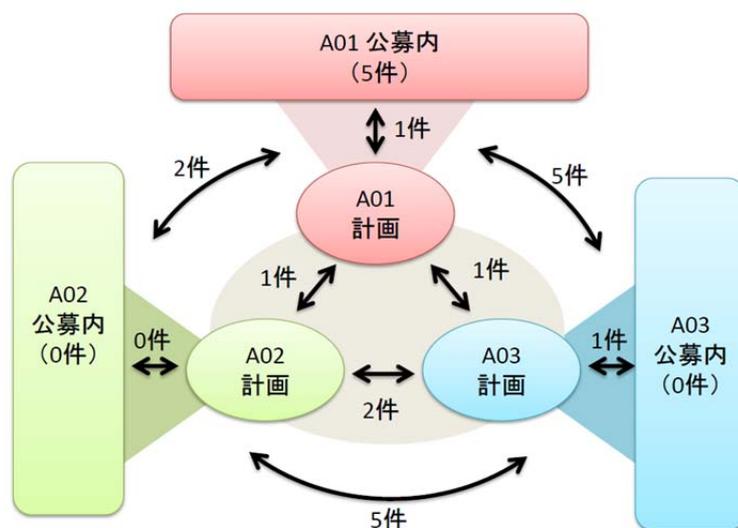
A02 古田—A03 清水: 局所的にオートファジーを阻害する薬剤のケージド化合物の新規開発、細胞内の局所で起こるタンパク質合成を制御できるようなケージド化合物を開発

A01 藤木—A03(分担)森川: 核内糖修飾の転写制御における役割の試験管内解析

A01 広常—A01(分担)寺脇: NUDCとキネシン複合体の構造解析、Rabと細胞質ダイニンの複合体の構造解析

### 公募—その他

A01 藤木—総括西村: ヒストン置換におけるヒストン GlcNAc 修飾の影響の試験管内解析



## 9. 研究費の使用状況

本領域で購入した大型備品は、NMR 分光光度計(A01 鳴田)、全反射蛍光顕微鏡システム(A01 神田)、超解像度 1 分子蛍光顕微鏡(A02 船津)、および等温滴定熱量測定装置(A03 白川)であり、それぞれ申請した計画研究に従って効率よく機能している。またこれらの備品は共同研究の実施にも活用されている。

総括班では当初、総括班員を研究分担者として登録し、旅費をあらかじめ配布していたが、効率よく研究費を使用するために、2 年度目からは総括班員を連携研究者として登録し、班員の旅費を総括班から支給している。

## 10. 今後の研究領域の推進方策

この新学術領域も、一昨年からの公募班員の参画を得て、3 年目となる。全体班会議での班員による発表・討論および総括班会議での議論を通して、当該領域研究の方向性に関するコンセンサスは公募班員をふくめて十分に取れていると判断する。また、研究進捗状況を鑑み、基本的には大きな問題は生じていないと判断する。また、公募班員には比較的若手研究者が多く、班会議での議論にも積極的に参加していることから、本領域が若手研究者の今後の発展に寄与するのではないかと考える。したがって、下記の当初の推進方策を継続する。

1. 研究推進の考え方: 基礎研究においてはトップダウン的な運営を目指すより、自由な発想に基づく個々の研究が重要と考え、加えてそれぞれの研究に参画している研究者はトップレベルの研究実施能力を有している事実を踏まえると、まずは個々のアイデアを実行しやすい環境を整備することが領域としての任務と考える。また、班会議で発表・議論を通して、各研究項目内および項目間および計画研究と公募研究間の共同研究が企画されるように配慮する。
2. 次世代を担う若手研究者のためのシンポジウムの開催: 昨年度および本年度と当該領域および周辺領域研究に関するチュートリアルコースを共催してきたが、今後も他の領域との共同開催など拡大して活動を行う。
3. 知的所有権への対応: 本領域では技術開発と個別テーマ研究とに大別できる。技術開発の成果に関しては、知的所有権の取得を行わず、広く活用していただくため、成果を公表し計画研究、公募研究および領域外の研究に活用する。個別研究の成果に関しては、内容により知的所有権の取得を推奨する。

## 11. 総括班評価者による評価の状況

### 大阪大学・医学系研究科・教授 宮坂昌之

本領域「過渡的複合体」は、非常にアクティブにその活動を行っている。なかでも研究代表者の嶋田一夫教授のエネルギーな活躍に触発され、本年5月に行われた合宿形式の班会議では、活発な研究発表、交流が行われ、計画研究のみならず公募研究の多くにおいても優れた萌芽となりうる知見が多々報告された。特に若手研究者からは活発な発言があり、きわめて質の高い会議であった。論文成果については、計画研究者においては期待どおりであるとともに、公募研究にも優れたものが出てきている。研究項目として、A01 準安定的に形成される生体分子複合体の構造とその機能発現機構、A02 準安定状態の動態を分子レベルで可視化する1分子観測技術の開発、A03 生理的準安定状態が引き金となって起こる高次生命現象の解析があるが、いずれにおいてもきわめて優れたレベルで研究がおこなわれている。さらに、このような本来の学術活動の他に、若手研究者の士気を高め、啓蒙的な役割をもつニュースレターの発行や、本年7月に計画されている公開シンポジウムの開催など、研究促進的な活動についてもきめ細かく進められている。総じて、きわめて良い方向で研究活動が進められていると評価する。

### 横浜市立大学・大学院生命ナノシステム科学研究科・教授 西村善文

平成22年度及び23年度の2回の班会議に参加する機会を得た。タンパク質の立体構造に基づく生命現象の理解において構造生物学が果たしてきた役割は非常に大きい。本領域はタンパク質の原子レベルでの構造に基づいた細胞現象での理解に向けて、シグナル複合体などの過渡的な複合体を対象とし、構造生物学に加えて、分子生物学、ケミカルバイオロジー、1分子計測学、細胞生物学の研究者を融合し、新たな学問分野を構築することを目指しており、その意義は非常に大きい。本領域においては既に膜タンパク質を中心とした蛍光による1分子ダイナミクスやX線を用いたチャネルの開閉遷移過程の1分子観測やNMRによる準安定な相互作用解析など非常に多くの特色すべき成果が出ている。一部過渡的複合体の範疇から外れるかと思われる発表もあったが多くの場合は新たな領域を開拓しようという意気込みにあふれ、特に積極的にケミカルバイオロジーの分野を取り込んだ有機的な連携研究が行われている点は高く評価できる。

### 大阪大学・蛋白質研究所・招へい教授 阿久津秀雄

新学術領域「過渡的複合体がかかわる生命現象の統合的理解—生理的準安定状態を捉える新技術—」は構造生物学、分子生物学、ケミカルバイオロジー、1分子計測学、および免疫学と幅広い学問分野の研究者の協力により生理的準安定状態を捉える新技術の開発を目指している。昨年と今年の班会議に参加させていただいた。いろいろな分野からの発表があるのでフォローしていくのは結構大変である。一回目は特にその感が強く、異分野の寄せ集めにならないかと心配した。しかし、広い分野から参加しているにもかかわらず議論が盛り上がっているのには強い印象を受けた。自分の研究に使える新しい技術に強い関心を持っているさまざまな分野の人が集まったためであろう。しかも、参加者の研究上の関心はまさに過渡的複合体にある。その意味において本新学術領域は時宜を得たプロジェクトと言える。班会議での発表内容は世界の第一線を行くものが多く、話を聞いていて楽しかった。私は構造生物学を専門にしているが、2年目になると有機化学者の化学プローブの設計思想を聞き、その御利益を見せて貰うことにより異分野融合の意味を自分なりに納得するようになった。しかし、私は所詮、門前の小僧である。参加者にとってはこれが共同研究への第一歩となることを願っている。そのような環境は少しずつできていると感じた。

**北海道大学・先端生命科学研究院・教授 稲垣冬彦**

細胞内に一過的に形成される準安定複合体こそ細胞内事象の時空間的制御の本質をなしているのではと日ごろ漠然と感じている。しかしこのような準安定複合体をいかに研究の対象としていくか、従来の構造生物学を超えた研究の枠組みが要求される。「過渡的複合体」では、構造生物学に加えイメージング、ケミカルバイオロジーといった新たな分野の研究者を加え、学際的な研究グループを作り上げた。まさに新学術研究の趣旨に沿うものである。実際、班会議での報告を聞くにつけ、班員の研究意識が目標に向かって集約されていくのを感じるし、新しい共同研究が始まっていることも頼もしく感じられる。今後の成果を期待している。