

領域略称名：天然変性蛋白質  
領域番号：3102

平成26年度科学研究費補助金「新学術領域研究  
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「天然変性タンパク質の分子認識機構と機能発現」

(領域設定期間)

平成21年度～平成25年度

平成26年6月

横浜市立大学大学院生命医科学研究科

教授 佐藤 衛

# 目 次

1. 研究領域の目的及び概要	2
2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	4
3. 研究領域の設定目的の達成度	6
4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	9
5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	10
6. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	11
7. 総括班評価者による評価	12
8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	14
9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	18
10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	32

## 1. 研究領域の目的及び概要（2 ページ程度）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、これまでの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

### 【研究の学術的背景】

分子生物学のセントラルドグマ(DNA → RNA → タンパク質)が提案され、タンパク質の機能がその立体構造と密接に関係していることを示したのはポリペプチド鎖の自発的な折れ畳まりを提唱したAnfinsenである。これを契機にアミノ酸配列がタンパク質の立体構造を規定し、その立体構造がタンパク質の機能を規定するという構造生物学のセントラルドグマ(アミノ酸配列 → 立体構造 → 機能)が提唱され、タンパク質の立体構造の構築原理の解明がスタートした。このようにして構造生物学のセントラルドグマが実証されようとしたときに、「単独では変性状態にあって特定の高次構造を形成していないがターゲット分子と相互作用すると規則正しく折り畳まれる(結合と連結して折り畳まれる)」天然変性タンパク質が次々と発見されるようになり、従来の「鍵と鍵穴モデル」や「適合融合モデル」による分子認識の概念が当てはまらなくなってきた。

天然変性タンパク質は真核生物に数多く見られるのが特徴で、真核生物の33%のタンパク質が長い天然変性領域をもつのに対し、古細菌や真正細菌のタンパク質ではわずか2%、4%に過ぎない。さらに、DNAの複製・転写・修復・組換えなどの生命活動において非常に重要な役割を担っている核内タンパク質に注目すると、実にヒトの転写関連因子ではその約50%が長い天然変性タンパク質(領域)を含んでいる。天然変性タンパク質は結合と連結した折り畳まりを通じて細胞内の様々なネットワークの中核として機能し、複数のターゲット分子と相互作用するハブタンパク質として非常に重要な役割を担っている。まさに「天然変性タンパク質の理解なくして真核生物の機能解明なし」である。したがって、これまでAnfinsenのドグマを契機にタンパク質の立体構造の構築原理の解明がスタートしたように、この天然変性タンパク質の発見を契機に、再度タンパク質の立体構造形成の原点に立ち返り、改めて天然変性タンパク質の分子認識機構及び機能発現機構の解明を強力に推進する必要がある。

### 【本研究が我が国の学術水準の向上・強化につながる点】

天然変性タンパク質が細胞内の様々なネットワークの中核となるハブタンパク質として機能することを考えると、天然変性タンパク質の発見は単に構造生物学のセントラルドグマ(アミノ酸配列 → 立体構造 → 機能発現)の修正だけで済む問題ではない。天然変性タンパク質は生命活動において非常に重要な役割を担っている真核細胞の核内に数多く存在しているのが特徴で、1つのタンパク質が数多くのターゲット分子と離合・集散しながら相互作用するという従来のタンパク質科学の概念を超えたまったく新しいタンパク質である。

したがって「天然変性タンパク質の理解なくして、真核生物の機能解明は不可能」であり、本研究はタンパク質科学のさきがけとなって、次世代の分子生物学、構造生物学、情報生物学をリードし、わが国の学術水準の向上・強化につながるものと期待される。

### 【研究期間内に何をどこまで明らかにしようとするか】

本領域研究では、構造生物学、分子生物学、情報生物学の異なる3分野間の連携研究を強力に推進し、天然変性タンパク質がどのような機構で構造や機能が異なる複数のターゲットタンパク質と相互作用(結合)するかについて、その構造科学的な基盤を理論的・実験的に解明する。具体的には、天然変性タンパク質が数多く存在する真核細胞の核内タンパク質を対象に、染色体 DNA に作用する転写因子や複製因子さらには数多くのタンパク質が共同作用する DNA の相同組換えや修復に対して、これらをレプリソームやレコンビノソームなどのタンパク質や核酸の動的複合体として捉え、その構造変化と機能制御の関係を分子生物学的手法によって明らかにする。また、クロマチンのリモデリング機構にはクロマチン関連因子の天然変性領域が中心的な役割を果たしているが、ヒ

ストンはその N 末端や C 末端がフレキシブルで、それらの部位のアセチル化やメチル化、リン酸化等の翻訳後修飾が遺伝子発現調節に深く関与している。そこでこのような天然変性タンパク質(領域)がクロマチンの構造変化にどのような影響を与えるかについて、構造生物学的手法、特に動的構造解析に適した最新の NMR 法や高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)法、質量分析(MS)法などで解析する。さらに、情報生物学的手法として高効率の立体構造探索法であるマルチカノニカル分子動力学シミュレーションにより、天然変性タンパク質の立体構造形成とカップルしたターゲット分子への特異的結合の過程を明らかにする。

また、ドメイン間に長い天然変性領域をもつ全長タンパク質の構造解析は従来の構造解析法では困難で、新たな手法の開発も本領域研究の大きな柱である。X線小角散乱(SAXS)法は近年散乱曲線から直接構造モデルが構築できる手法が開発され、タンパク質複合体やマルチドメインタンパク質の構造解析に有効な手段であることが示されている。しかし、ドメイン間に長い天然変性領域が存在するマルチドメインタンパク質では SAXS 法で得られる全長タンパク質の構造は時間的に平均された構造である。そこで、SAXS 法に分子動力学シミュレーション法を組み合わせることにより、天然変性領域を含むタンパク質の動的構造を原子レベルで解析できる手法を開発し、従来の手法では観測困難であった天然変性状態の構造解析を可能とする基盤技術を構築する。

### 【領域内での研究の有機的な結合により、新たな研究の創造が期待できる点】

本領域研究では「天然変性タンパク質の理解なくして真核生物の機能解明なし」を合言葉に、天然変性タンパク質の分子認識と機能発現機構の解明を目指す。そのためにはX線結晶構造解析などの既存の手法だけでは不十分である。新たな手法や解析法を開発して他の研究分野と積極的に連携していく必要がある。

本領域研究ではこのような考え方に基づいて、構造生物学、情報生物学、分子生物学の研究者が有機的に結合(連携)し、天然変性タンパク質の分子認識と機能発現機構を解明していく。このような有機的連携研究を通じて次世代の生命科学の礎となる物理学・化学・生物学が融合した新しい学際的な研究領域が創造されていくものと期待される。

### 【当該分野におけるこの研究(計画)の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義】

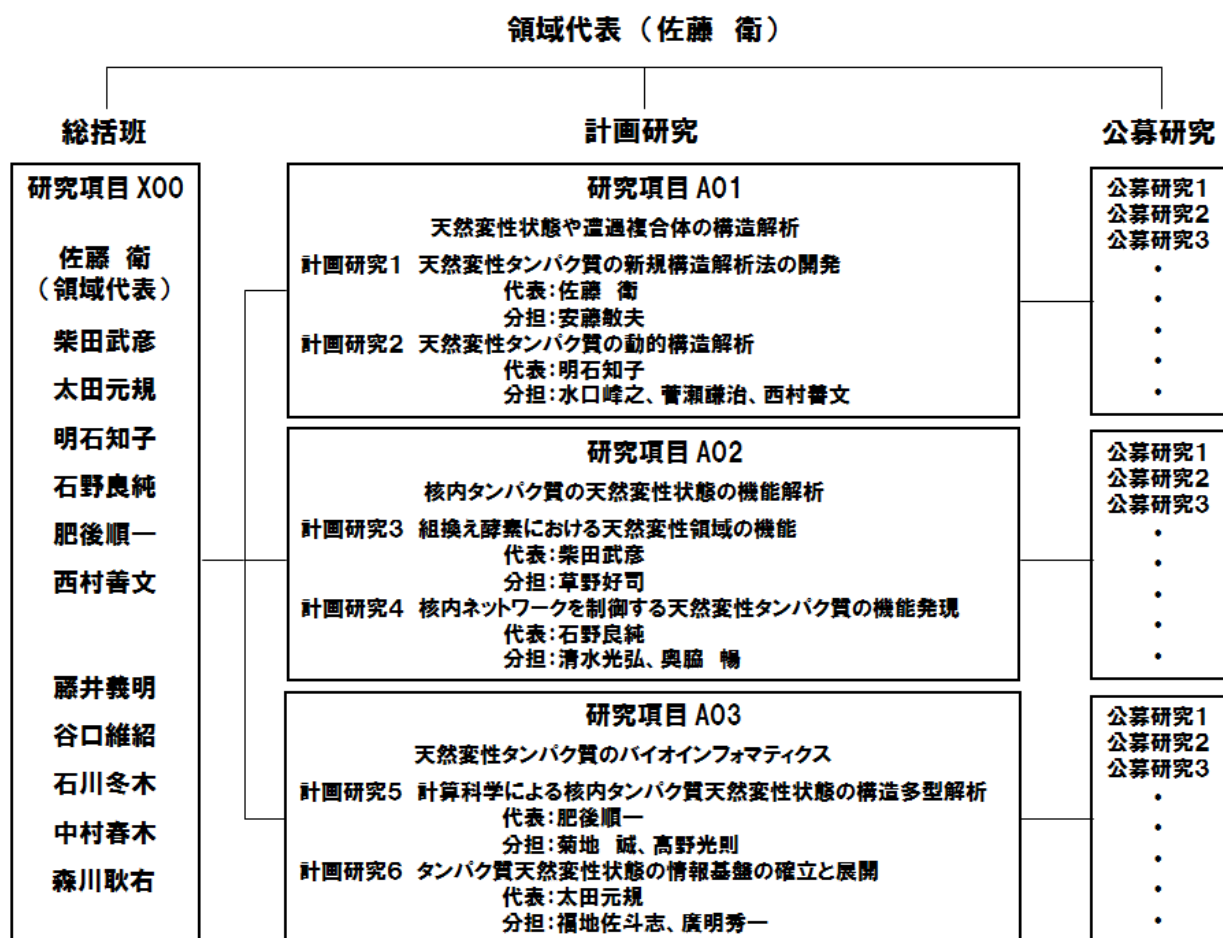
天然変性タンパク質は真核細胞の核内に多く存在し、複数の分子と離合・集散を繰り返すハブタンパク質として機能する。本領域研究では、X線やNMR等において新しい構造解析法を開発・研究する構造生物学グループ(研究項目:A01)、天然変性タンパク質の機能を分子生物学・生化学的に解析する分子生物学グループ(研究項目:A02)、天然変性タンパク質による分子認識機構を理論的な観点やデータベースに基づいて研究する情報生物学グループ(研究項目:A03)を形成し、三位一体となって密接に協力・連携し合うことによって、新しい学際的な研究領域を作り上げる。本領域研究を通じて上記3つの研究分野のいずれにも精通した若手研究者が数多く誕生し、創造された新しい学術研究領域のもとに結集することによって、従来のタンパク質科学の概念を超えたまったく新しい挙動を呈する天然変性タンパク質を究める道筋が大きく開かれるものと予想される。

また、それぞれの研究グループ(研究項目)にはそれぞれ計画研究班を2つ設置した。すなわち、構造生物学(研究項目:A01)ではX線結晶解析や SAXS 法、高速 AFM を使って天然変性タンパク質の新規構造解析法の開発する**計画研究 1**と NMR および質量分析装置を使って天然変性タンパク質の動的構造解析する**計画研究 2**、分子生物学(研究項目:A02)では組換え酵素の天然変性領域の機能解析を行う**計画研究 3**と核内ネットワークを制御する天然変性タンパク質の機能発現を解析する**計画研究 4**、そして情報生物学(研究項目:A03)では計算科学による核内タンパク質の天然変性状態の構造多型解析を行う**計画研究 5**とデータベースを構築して天然変性状態の情報基盤を確立する**計画研究 6**を設置することによって、本領域研究の目標達成に必要な研究体制を組織した。

## 2. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況（2 ページ程度）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

### 1. 研究組織の構成



## 2. 研究項目間の連携状況

### 2-1. 計画研究-計画研究

- A01 佐藤×A02 石野: 天然変性領域をもつ Hef タンパク質の MD-SAXS 法による動的構造解析
- A01 佐藤×A01 明石: 相同組換え補助因子 Swi5-Sfr1 複合体の構造解析
- A01 安藤×A02 石野: 天然変性領域をもつ Hef タンパク質の高速 AFM による動態解析
- A01 安藤×A01 水口: 天然変性蛋白質 PQBP1 の高速 AFM による構造および動態解析
- A01 明石×A01 西村: イオンモビリティ質量分析と NMR による H2A/H2B 及びヌクレオソームコアの構造変化の解析
- A01 明石×A02 奥脇: クロマチンリモデリング因子(Nucleoplasmin/Nucleophosmin)のサブユニット解析
- A01 明石×A02 石野: テロメアリピート配列及びテロメア結合因子 TRF1 の構造機能解析
- A02 清水×A01 西村: テロメアにおけるヌクレオソームの構造動態解析
- A02 清水×A01 西村: Ume6 の天然変性領域の構造機能解析
- A02 柴田×A02 草野: RecA 族組換え酵素 Rad51 と DNA ヘリカーゼ Srs2 の遺伝学的解析
- A02 石野×A02 清水: クロマチン関連因子との相互作用を介した Ume6 の機能解析
- A02 石野×A02 奥脇: ヒストンシャペロン NAP1 とヒストン H2A-H2B との相互作用解析

A03 肥後×A01 西村: 全原子 McMD による coupled folding and binding 機構の研究  
A03 太田×A02 柴田: Rad52 及び Rad51 の天然変性領域の構造機能予測  
A03 太田×A02 石野: Hef および FancM タンパク質の天然変性領域の構造機能予測  
A03 太田×A02 清水: Ume6 の天然変性領域の構造機能予測  
A03 太田×A02 奥脇: 核小体タンパク質 nucleolin と NVL2 の相互作用解析

## **2-2. 計画研究—公募研究**

A01 佐藤×A01 杉山: 変異型ヌクレオソーム及び高次ヌクレオソームの X線・中性子溶液散乱解析  
A01 佐藤×A01 荳口: 新規 MD-SAXS 法を用いた天然変性タンパク質の動的構造解析  
A01 佐藤×A02 有田: 天然変性領域を含む HRF1 のヒストン認識ドメインの X線溶液散乱解析  
A01 安藤×A02 野田: 天然変性タンパク質 Atg13 の高速 AFM による動態解析  
A01 明石×A01 河田:  $\alpha$  シヌクレインの天然変性状態の微細構造解析  
A01 西村×A02 堀越: pH 変動による遺伝子制御に関する研究  
A01 西村×A03 新井: NRSF/REST の N 末端天然変性領域とコリプレッサー mSin3 の PAH1 ドメインとの相互作用解析  
A01 菅瀬×A01 荳口: MD-SAXS 法に NMR データを加味した新規 MD-SAXS 法による天然変性タンパク質の動的構造解析  
A03 太田×A02 伊倉: 天然変性タンパク質 TAU と関連因子である微小管切断酵素 Katanin との構造機能解析  
A03 太田×A02 伊藤: 膜曲率を検知する kinase Fer の膜結合新規ドメイン FX (F-BAR-NEXT domain) の構造機能解析  
A03 廣明×A02 伊倉: カタニンの構造機能解析  
A03 肥後×A03 石田: MutS タンパク質のミスマッチ DNA に対する自由エネルギー計算  
A03 高野×A03 新井: NRSF/REST の N 末端天然変性領域とコリプレッサー mSin3 の PAH1 ドメインとの相互作用解析

## **2-3. 公募研究—公募研究**

A01 鎌形×A01 関 : 単分子構造解析に関する実験基盤の構築。  
A01 河田×A01 関 :  $\alpha$  シヌクレインの動的構造解析  
A01 鎌形×A01 佐甲: 1 分子計測データの解析  
A01 星野×A01 杉山: 転写因子 Sp1 及び TAF4 の X線・中性子溶液散乱解析  
A01 星野×A02 宮田: 分子シャペロン cdc37 の CD ならびに NMR による構造解析

## **3. 組織間の連携や計画研究と公募研究の調和**

総括班会議を定期的開催し、研究項目間の連携研究を積極的に推進していった。さらに、連携研究の進捗状況を常時把握し、それぞれの計画および公募研究が本領域の目指している方向に正しく進んでいるかどうかを正確に評価して助言・提言を行ってきた。また、公募研究については、その必要性を強く認識し、応募されてきた研究の中から真に本領域研究の推進に寄与する研究課題を厳選し、有望な若手研究者の発掘・育成に努めてきた。

### 3. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ程度）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記載してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目毎の状況も記述してください。

#### 研究項目 A01：計画研究 1「天然変性タンパク質の新規構造解析法の開発」

天然変性タンパク質 (IDP) 及び天然変性領域 (IDR) を含むマルチドメインタンパク質の立体構造解析は既存の手法では困難である。そこで、本研究では、以下の2つの手法 (MD-SAXS法および高速AFM法) を発展させて、天然変性タンパク質に適した新規構造解析の開発を行なった。

##### ① X線溶液散乱 (SAXS) と分子動力学 (MD) シミュレーションを組合せた MD-SAXS 法による動的構造解析

MD-SAXS 法による動的構造解析では、新規に購入した2次元複合型ピクセルアレー検出器を既存の SAXS 装置に組み込んで測定システムの最良化・効率化を図るとともに、X線結晶構造解析や NMR によって得られた原子モデルから水和構造を正しく考慮して理論的に SAXS 強度を計算する方法を開発した。この方法については世界的に幾つかの方法が提案されているが、実験的に得られた SAXS 強度との一致度はよくない。そこで、本研究では、タンパク質溶液と緩衝溶液の両者に対して MD シミュレーションを行ってタンパク質溶液と緩衝溶液の SAXS 強度を計算し、両者を差し引く方法を開発した。この方法は、これまでに提案されている方法とはまったく異なる発想に基づいてタンパク質分子表面の水和水からの散乱を取り扱っており、モデルタンパク質を用いた動的構造解析で良好な結果が得られた。

次に、ドメイン間に長大な IDR が存在する古細菌由来タンパク質 Hef の SAXS データを収集し、このデータを使って2面角データベースから 600,000 の Hef-IDR 構造を抽出して Hef 全長構造を構築し、収集した SAXS データを用いて MD-SAXS 法による動的構造解析を行った。決定するパラメータの数に比べて観測値の数が不足する Over-fitting の問題を SAXS データと補完的なデータが得られる NMR の化学シフトや残余双極子相互作用 (RDC) を実験データに加えて分子動力学計算を行う手法を開発して解決し Hef の全長及び Hef の IDR の動的構造解析を行った。

公募研究では、リガンド非結合状態の IDP の構造特性を明らかにするための解析手法の開発を実施し、RDC の実測値を用い、これを良く再現するモデル構造集団を効率よく生成する手法を開発した。さらに、この手法を使って変性剤変性状態タンパク質と酸変性状態タンパク質、更に典型的な IDP である  $\alpha$  シヌクレインの構造特性を解析した。その結果、変性剤変性状態は、アミノ酸配列上にターンなどの屈曲構造が一定の割合で含まれるものの基本的にはランダムコイル鎖であることを示した。一方、酸変性状態タンパク質は変性剤変性状態様のランダムコイル鎖を示す領域以外に、2次構造を多量に含む領域や鎖が極端に伸びた領域の3種類の領域がアミノ酸配列上に混在することを明らかにした。

##### ② 高速原子間力顕微鏡 (高速AFM) による動態解析

高速 AFM による天然変性領域の動態解析の研究では、新しい振幅計測法を導入して装置のノイズ低減化を図るとともに、IDP を含む種々のタンパク質の観察に適した基板や溶液条件を検討した。IDR をもつタンパク質 FACT については、IDR のリン酸化に伴うフォールディングを見出し、IDR と DNA の結合がこのフォールディングを通して調節されていることが示唆された。IDR を多く含むと予測される PQBP-1 の高速 AFM 撮影を試み、WWドメインと推定される球状ドメインに IDR と思われる長い紐状の構造が続き、その先に小さい球状のドメインがあるように観察された。IDR の存在が確認されていない種々のタンパク質のダイナミクスについても高速 AFM 撮影を行った。

さらに、多くの IDR を含むタンパク質及びそれらの部分断片試料のイメージングを行い、理論予測との比較、及び、天然変性領域に共通する性質や個々のタンパク質の天然変性領域に特有な性質を調べた。理論予測と一致する場合が一般的であるが、天然変性と予測されている領域が秩序構造をもつ場合や、それと逆の場合もあった。理論的に導かれる中間的な秩序-非秩序指数に対応する構造は実際には存在せず、完全秩序-完全非秩序状態の間をダイナミックに転移している可能性が示唆された。実際、メチル化 DNA 結合タンパク質 MeCP2 において転移現象が見出された。天然変性領域がほとんどを占めるタンパク質については、高速 AFM 観察を容易にするために GFPなどを末端に導入した試料の調製を進めた。

次に、IDR と非 IDR の同定を NMR 解析が進んでいる PQBP-1 を標準試料として調べ、高速 AFM 解析の信頼性をまず確認した。何種類かの IDP の高速 AFM 観察を進めたが、特に、べん毛の Hook の長さに関係すると言われている FliK と Rett 症候群に関与する Methyl CpG Binding Protein 2 (MeCP2) について多くの観察を行った。FliK では N 端と C 端にある球状ドメインが ID 領域で連結されている構造が観察されるが、N 端側半分のコストラクトではかなり ID 構造となっており、NMR の結果と一致する。MeCP2 については、一次構造と IDR、非 IDR との関係を決めた。

以上①及び②の研究結果はともに応募時に設定した研究目標を概ね満足するもので、この研究で開発された手法が NMR 法とともに天然変性タンパク質の動的構造解析の主流になっていくものと期待される。

#### 研究項目 A01：計画研究 2「天然変性タンパク質の動的構造解析」

本研究では、転写因子、スプライシング関連因子、ヒストンタンパク質等を対象に、NMR や質量分析 (MS) を用いて天然変性タンパク質の動的構造を解析し、天然変性タンパク質を構造から理解し、分子認識機構の構造的な普遍性を

解明することを目的として研究を展開した。

イオンモビリティ質量分析(IM-MS)では、相同組換え補助因子 Swi5-Sfr1、ヒストン多量体、ヌクレオソームコア等天然変性領域を有する複合体の気相における振る舞いを詳細に解析することができた。ヒストン多量体は、気相において二つの構造群に大別される構造をとり、天然変性領域であるテイル領域がこの二峰性を生み出していることを IM-MS と分子動力学シミュレーションで明らかにした。また、テイル部分のアセチル化や脱イミノ化が気相におけるヒストン多量体の衝突断面積には大きな影響を与えないが塩濃度に対する安定性に違いがあることを MS で見出した。これらは研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

NMR による動的構造解析では、iPS 細胞を誘導する転写因子 Sox2 と Oct3/4 を対象にした。Sox2 は 25°C では折り畳まれているが 37°C ではほぼ天然変性状態であり、非特異的 DNA に対しても特異的 DNA と似た構造で結合することが分かった。一方、Oct3/4 は、遊離状態でもフォールドした硬い構造をとっていること、N 末端に存在する天然変性領域が非特異的な DNA 結合に重要であることが分かった。天然変性タンパク質の動的構造解析法の開発では、差スペクトル法を活用して揺らいでいるシグナルだけを残して解析する手法(緩和分散差スペクトル法)を構築した。また、データを間引いて測定する非線形サンプリング法とその解析法 SIFT 法及び緩和分散法を組み合わせることで短時間で緩和分散測定を完了させる方法論も開発した。研究計画の達成度は、Oct3/4 と Sox2 の協調性の解析と他の転写因子の解析は未達だが、他のものに関してはほぼ計画通りである。

スプライシング関連因子で IDR を含むマルチドメインタンパク質の PQBP1 の動的構造解析については、PQBP1 の IDR がスプライソソームの U5-15kD をどのように認識するのか、また、IDR がどのような立体構造になって相互作用するのかを解明すべく研究を行った。PQBP1-U5-15kD 複合体および PQBP1-U5-15kD-U5-52K 複合体の立体構造解析に成功したことから、応募時に設定した研究目的を達成した。

さらに、神経特異的抑制因子 NRSF の N 末端 IDR とコリプレッサー Sin3 との複合体構造から両者の相互作用を阻害する化合物の同定を NMR で行い、2つの治療候補化合物を見出して特許出願を行った。分裂酵母のヘテロクロマチン形成に関与する Chp1 タンパク質クロモドメインの N 末端テイルの IDR では、H3K9me との結合により短いヘリックスが誘起され、その部位が ncRNA 結合にも関与することを見出した。さらに、リン酸化された天然変性領域を含む HP1 のクロモドメインと H3K9me ペプチドとの動的複合体構造を NMR で解析し、N 末端リン酸化体も非リン酸化体もクロモドメイン部分の構造は同じであることを見出した。また、ヒストン H2A/H2B 二量体の NMR 測定により得られた化学シフトと MD 計算を組み合わせる解析を行い、溶液中での H2A/H2B 二量体の構造を解析した。これらの成果は研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

### 研究項目 A02 : 計画研究 3 「組換え酵素における天然変性領域の機能」

本研究の目的は、相同組換え開始酵素とそれと相互作用するタンパク質の天然変性領域と推定された領域が実際に組換え制御に働いているか、どのような相手と相互作用してどのように組換え反応が機能し、どのような遺伝的結果を引き起こすのかを明らかにし、高等生物の相同組換えに働く天然変性領域での相互作用の特異性を決める原理とその普遍的な機能を明らかにすることである。

相同組換えの開始に働く酵素として RecA 族組換え酵素の Rad51 では、Rad51 と天然変性領域で相互作用するタンパク質として、組換えメディアエーターの代表 Rad52 および抗組換え酵素といわれていた Srs2 DNA ヘリカーゼを取り上げた。Rad52、Srs2 という異なる機能のタンパク質が自身の非対称的重合に働く Rad51 の N 末端側天然変性領域にある Phe 残基を中心とする Rad51 コアドメインとの相互作用と共通であり、それと拮抗する相互作用で一連の組換え経路の制御が行われていることを示す成果が得られた。研究期間内に解析に必要な Rad52 の天然変性領域と Rad51 の複合体の結晶が得られなかったため、分子構造レベルで特異性を決める原理の理解までは行かなかった。

しかし、ゲノム DNA の二本鎖切断修復機構についての理解を深める重要な発見を含む成果が得られた。まず、交叉型組換え体ができる経路での第 2 切断端捕捉について新たな考え方を迫る知見が、Srs2 の天然変性領域と Rad51 の相互作用についての解析から得られた。さらに、その解析から、組換え酵素 Rad51 が相同組換えだけでなく、非相同末端結合といわれる、体細胞の特に G1 期での二本鎖切断修復機構を正確に行うことに深く関わっているという、当初予測されていなかった新知見が得られた。これらの成果は研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

### 研究項目 A02 : 計画研究 4 「核内ネットワークを制御する天然変性タンパク質の機能発現」

本研究の目的は、DNA 複製、修復、転写を制御する因子とクロマチンとの関係に焦点を当て、そこに関わる天然変性タンパク質について、構造と機能を詳細に調べてその役割を解明することである。この目的を達成するために、以下の4つの研究を展開した。

#### ① DNA 複製と協調した修復機構に関わる天然変性タンパク質の機能解析

本研究では、ヒト Hef と古細菌 Hef の天然変性領域と相互作用するタンパク質因子を同定し、どれがどこにどのように結合するのかを生化学的に解析する、その結果に基づいてヒト Hef から単一機能ドメインの同定と各種複合体の単離



を試みる、それぞれの複合体が DNA に対してどのような作用をするのかを試験管内の種々のアッセイ法によって解析する、各機能ドメインを含む複合体は構造解析に供する、という計画を立てて臨んだ。ヒト cDNA と古細菌の DNA ライブラリーを用意し、酵母 two-hybrid 法でそれぞれの天然変性領域をベイトにして網羅的なスクリーニングを行なった結果、両者ともに新規な結合タンパク質が検出された。これらの候補タンパク質について、本研究期間の間に順次詳細に解析を進めた。また、複製因子 GINS に存在する天然変性領域の機能やイネの組換え中間体切断酵素候補タンパク質の同定とその中の大きな天然変性領域の発見などの成果も得られ、計画どおりにプロジェクトを進めることができた。

#### ② クロマチンネットワークにおける天然変性領域の機能解析

本研究では、出芽酵母の転写制御因子 Ume6 に関して、クロマチン関連因子 Rpd3, Isw2 との相互作用を介した転写活性化と抑制に関与する天然変性領域として4つの領域を同定した。Ume6 の天然変性領域と相互作用するパートナー因子に関しては詳細な構造生物学的解析が必要な状況である。一方、クロマチンの基本単位であるヌクレオソームの形成とダイナミクスの解析では、天然変性タンパク質・ヒストン 8 量体はテロメアリピート配列から排除される性質を有することを *in vivo* で明らかにした。さらに、ヒトテロメアでのヌクレオソーム形成にはテロメア結合因子 TRF1 の天然変性領域が重要な役割を果たすことを明らかにした。また、湾曲した DNA 構造がヒストン 8 量体に高い親和性を有し、ヌクレオソームをスライドさせて転写を活性化することや 5-bromodeoxyuridine がヌクレオソームポジショニングに影響を与えることを示し、ヌクレオソームポジショニングとダイナミクスを規定する因子について概ね目的を達成した。

#### ③ クロマチン制御因子の構造と機能解析

本研究では、ウイルスクロマチン制御因子として同定した Nucleophosmin/B23 の RNA との相互作用の機能的意義と、RNA 結合における天然変性領域の役割の解明を目指した。期間内に B23 の RNA 結合は B23 のクロマチン制御機能に重要であることを明らかにした。また、B23 の天然変性領域の分子間および分子内相互作用が、その RNA 結合活性の制御に重要であることを明らかにした。B23 機能に関してはおおむね目的を達成できた。また、構造生物学グループの西村先生とともに、ヒストンシャペロン NAP1 のヒストン結合の特異性を明らかにすべく研究を進めた。NAP1 の酸性アミノ酸が連なった天然変性領域が、ヒストン H2A-H2B に特異的に結合することを生化学、構造生物学的に明らかにした。NAP1 の酸性領域と H2A-H2B の相互作用の機能的重要性に関しては、さらに解析が必要な状況である。これらの成果は研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

### 研究項目 A03 : 計画研究 5 「計算科学による核内タンパク質天然変性状態の構造多型解析」

天然変性タンパク質とそのパートナー分子との複合体は実験的に構造解析できるが、天然変性タンパク質の複合体形成機構は coupled folding and binding であり、過渡的な過程を実験的に捕まえるのは困難である。そこで、全原子マルチカノニカル分子動力学法 (all-atom McMD) を開発し、この手法を単独では天然変性タンパク質である NRSF がターゲットタンパク質 mSin3 と相互作用して  $\alpha$  ヘリックスが形成される機構の解析に適用した。その結果、遊離の天然状態の NRSF は多様な構造の間を揺らいでおり、そのいずれもが mSin3 に結合すること、さらに、NMR で決定された NRSF と mSin3 との複合体構造とは異なる複合体構造が形成されると、複合体中の NRSF は構造を変化させながら最終的には  $\alpha$  ヘリックスを形成することを明らかにした。この結果は天然変性タンパク質の分子認識が Induced-fit と Population-shift の二面性を示すことを意味し、従来の高次構造を形成したタンパク質とは異なった分子認識で機能を発現することが明らかとなった。また、NRSF と mSin3 の系以外にも全原子モデルを使った McMD 法による解析を適用し、それぞれの天然変性タンパク質で分子認識の二面性の度合いが異なることが示され、天然変性タンパク質の複雑な分子認識機構が改めて認識された。

また、全原子計算で得られた複雑な構造変化の過程を粗視化モデルで取り扱うことで複雑さの裏に潜む本質的な因子 (複数の立体構造の間の安定性の競合関係) を明らかにすることに成功し、計算科学による構造多型解析が天然変性タンパク質の分子認識機構解明に非常に有効であることが示された。これらの成果は研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

### 研究項目 A03 : 計画研究 6 「タンパク質天然変性状態の情報基盤の確立と展開」

天然変性タンパク質に関する構造と機能に関する情報を収集し、質・量ともに充実したデータベースを作成・公開することで情報基盤を確立することを目的に研究を展開した。その結果、情報の収集方法、注釈付及びデータ登録の方法など検討し、天然変性タンパク質のデータベース (IDEAL) を構築することに成功し、現在 400 以上の天然変性タンパク質についてデータを公開している。公開に際しては、天然変性領域・構造領域等が直感的に理解できるようにアミノ酸配列を帯で表現し、各部位を色別表示するようにインターフェースを工夫した。IDEAL データベースでは、核内タンパク質を中心に天然変性領域上の機能部位や翻訳後修飾部位について文献調査などに基づく注釈付けを行っており、データは全て XML 化されている。さらに、計算機上で様々な処理ができるように工夫され、IDEAL は世界標準で利用されるデータベースになりつつある。これらの成果は研究計画時に設定した目的をほぼ達成するものである。

#### 4. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1ページ程度）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

##### 研究項目：A01「天然変性状態や遭遇複合体の構造解析」

天然変性タンパク質研究で最も重要な「結合と連結した折れ畳まり：Coupled folding and binding」機構の解明では、コントラスト変調法を利用した中性子溶液散乱法が効果的である。しかし、2011年3月11日の東日本大震災の影響で国内唯一の研究用原子炉 JRR3M が使用できなくなり、かつパルス中性子源である J-PARC プロジェクトも甚大な被害を受け、その復旧にはかなりの日数がかかる見通しとなった。そこで、海外の中性子散乱施設を利用して中性子散乱実験を実施した。

##### 研究項目：A02「核内タンパク質の天然変性状態の機能解析」

タンパク質の立体構造を専門にしていない分子生物学者の間では、天然変性タンパク質の概念について、各人の理解にかなりの違いがあることが領域会議などで明らかになった。そのような状況下で、「コンピュータによる天然変性タンパク質（領域）の探索」と題する第1回若手育成講習会が2010年9月10日に横浜市立大学鶴見キャンパスで開催された。若手研究者だけでなく中堅以上の研究者の参加も見られたが、分子生物学グループの研究者にとって天然変性タンパク質の概念を共有することに大いに役立った。今後も、折に触れて天然変性タンパク質の概念について議論することが肝要とあると考えている。また、天然変性タンパク質の分子認識機構として「結合と連結した折れ畳まり」がよく取り上げられるが、天然変性タンパク質の全容まだまだ未知数で、「結合と連結した折れ畳まり」以外の新規な分子認識機構がこれから発見されることも十分考えられる。新しい描像や特性についても過去の常識にとらわれずに柔軟に対応し、天然変性タンパク質の概念を刷新し、共有していくことが肝要であるとの認識に至った。

##### 研究項目：A03「天然変性タンパク質のバイオインフォマティクス」

タンパク質の結合とタンパク質の折れ畳まりの問題はそれぞれが難しく、通常のシミュレーションでは個別に研究される。しかし、「結合と連結した折れ畳まり：Coupled folding and binding」が特徴の天然変性タンパク質の構造と機能を明らかにするためには、この2つの問題を同時に解決しなくてはならない。そこで、本研究グループでは All-atom McMD 法を開発し、構造探索アルゴリズムを飛躍的に発展させることで、天然変性タンパク質（NRSF）とそのターゲットタンパク質（mSin3）の自由エネルギー算出に対応した。その結果、NRSF が mSin3 と相互作用するときの Coupled folding and binding 機構は Induced-fit と Population-shift の二面性を示す結果が得られた。しかし、この様な二面性が天然変性タンパク質一般の分子認識機構であるかどうかを明らかにするためには NRSF と mSin3 の系以外の多くのケースについて All-atom McMD 法による解析が必要であることが改めて認識された。また、天然変性タンパク質のアノテーションの作業では、様々な実験結果から状態を判断しなくてはならず、解釈が難しい場面に多々遭遇している。そこで、アノテーション作業を標準化するために、毎週2-3回のスカイプ会議、月1回の Face to Face の会議を実施し、新事例については XML タグの増設などで対応してきた。

## 5. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ程度）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者の研究終了後の動向等を記述してください。

### 【若手研究者育成の取り組み】

以下の4回の講習会を開催し、若手人材の育成に努めた。

1. 第1回講習会（2010年9月10日、横浜市立大学鶴見キャンパス）  
コンピュータによる天然変性タンパク質（領域）の探索と題して、天然変性タンパク質（領域）を予測するプログラムの原理の説明から、実際に現在どのようなプログラムが公開されていて、それぞれにどのような特徴があるのかなど、情報生物学が専門でない研究者にも理解できる内容の講習会を行った。
2. 第2回講習会（2011年4月26日、大阪大学蛋白質研究所）  
NMRによるタンパク質解析法の基礎的理解（概論と実習）と題して、NMRを専門としない研究者が天然変性タンパク質の研究においてNMRのデータを利用、理解するための基礎的かつ実践的な講習会を行った。
3. 第3回講習会（2012年9月12-13日、大型放射光施設：SPring-8）  
X線溶液散乱によるタンパク質の構造解析法の基礎的理解と題して、天然変性タンパク質の動的構造解析への展開に向けて、他の手法と組み合わせたX線溶液散乱の最先端の研究事例を紹介するとともに、溶液散乱の基礎理論から実験室、放射光ビームラインでの測定方法などの講習を行った。
4. 第4回講習会（2013年5月22-23日、高エネルギー加速器研究機構放射光科学研究施設：PF）  
タイトル：第1回タンパク質X線溶液散乱講習会、第3回に引き続き天然変性タンパク質の動的構造解析への展開に向けて他の手法と組み合わせたX線溶液散乱の最先端の研究事例を紹介するとともに、結晶構造解析を専門とする研究者が溶液散乱データをどの様に活用しているのか紹介した。さらに、試料準備から実験室や放射光ビームラインでの実際の測定・解析方法などに関して講習も行った。

### 【若手研究者の研究終了後の動向】

1. 計画研究代表者：明石知子氏が本プロジェクトで雇用した学術研究員が、本領域終了時に広島大学理学研究科助教に採用された
2. 計画研究代表者：石野良純氏が本プロジェクトで雇用した学術研究員が名古屋大学大学院医学研究科の助教に採用された。
3. 計画研究代表者：太田 元規氏の博士課程大学院生が、名古屋大学博士研究員を経て、2012年4月より日本学術振興会特別研究員として採用された。また、本領域開始当時博士研究員であった研究者が、名古屋大学博士研究員を経て、2011年8月より、北陸先端科学技術大学院大学の助教に採用された。同じく本領域開始当時、名古屋大学の博士研究員であった研究者が2011年より富山大学の特命准教授に採用された。
4. 計画研究分担者：安藤敏夫氏の研究室の若手准教授が戦略的創造研究推進事業（さきがけ）に採用されるとともに、第9回若手奨励賞（日本生物物理学会）を受賞した。
5. 公募研究代表者：佐甲 靖志氏の連携研究者の研究成果が認められ、研究員（助教・講師相当）から専任研究員（講師・准教授相当）へ昇進した。
6. 公募研究代表者：星野 大氏の研究協力者の修士課程の学生が天然変性領域を介した分子間相互作用の解析に興味をもち、博士課程に進学することを決意した。
7. 公募研究代表者：中村照也氏が、2012年に日本生物物理学会若手奨励賞、2013年に日本結晶学会進歩賞と国立大学法人熊本大学研究業績表彰を受賞した。
8. 公募研究代表者：中川 洋氏が所属機関の昇任試験に合格し、平成25年7月より、研究員から研究副主幹に昇任した。

## 6. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）（1 ページ程度）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について総括班研究課題の活動状況と併せて記述してください。

### 【研究領域内で共有する設備の活用状況】

1. 研究項目A01「天然変性状態や遭遇複合体の構造解析」天然変性タンパク質の新規構造解析法の開発で購入した2次元複合型ピクセルアレー検出器（PILATUS100K/R）：  
X線溶液散乱法（SAXS 法）による天然変性タンパク質の動的構造解析のために購入した2次元複合型ピクセルアレー検出器（PILATUS100K/R）の導入により、低濃度かつ微量のタンパク質で SAXS 強度を高感度かつ低ノイズで測定することが可能となった。さらに、研究期間内にX線光学系も改良したことにより、天然変性タンパク質及び天然変性領域をもつマルチドメインタンパク質の SAXS データが迅速かつ高精度で収集することができ、それらの動的構造解析とともに、天然変性タンパク質とリガンド（タンパク質も含む）との相互作用の解析や天然変性領域の予測の検証など研究領域内の多くの研究者との共同研究など多方面に利用され、当該領域研究の推進に大きく寄与した。
2. 研究項目 A01「天然変性状態や遭遇複合体の構造解析」天然変性タンパク質の動的構造解析」で購入したイオンモビリティ質量分析装置（Synapt G2 HDMS, Waters）：  
天然変性タンパク質の気相での振る舞いを観測する目的で購入したイオンモビリティ質量分析装置は、溶液におけるタンパク質を極めてソフトな条件でイオン化し気相に導き質量情報を与える上に、衝突断面積という測定対象イオンの物理化学的な指標を提供する。得られる質量情報は、電気泳動や光散乱と比較するとはるかに精度がよいため、領域内外の研究者との共同研究において活用されている。例えば、A02 計画研究分担者・奥脇暢准教授との共同研究で、Ncleoplasmin/Ncleophosmin のサブユニット構成を決定したり、ヌクレオソームコアの再構成の過程におけるヘキサソームの観測に成功するなど、多くの研究成果が生み出された。さらに、溶液におけるタンパク質の構造変化を検出する目的で、水素重水素交換を行ったタンパク質をオンラインで分析するためのシステムを構築・接続し、応用研究を展開する等、有効に活用されている。

### 【研究費の効果的使用についての総括班研究課題の活動状況】

各計画研究班の研究者代表者6名と、天然変性タンパク質の構造解析に直接関わって本領域課題の重要性を主張してきた西村（計画研究3の分担者）、さらにこれまでわが国のそれぞれの領域を先導してきた森川（構造生物学）、藤井、谷口、石川（分子生物学）、中村（情報生物学）を加えて総括班を組織し、定期的に総括班会議を開催して、研究領域内で共有する設備の活用状況についての現状を報告するとともに、より効率的な運用を展開するための方法や試料や情報の共有、研究の優先順位などの議論を重ね、多くの領域内研究者が天然変性タンパク質の分子認識・機能発現機構の重要性を認識しながら各自の研究が進められるように研究費の効果的使用に努めてきた。

総括班では、この他に平成21年度に研究領域結成を国内外に発信するキックオフシンポジウムを企画し、その後、国際シンポジウムを平成23年度と平成25年度に、そして国内（若手）研究者に向けて公開シンポジウムを平成22年度と平成24年に企画して、国内外に当該領域研究で得られた研究成果を発信してきた。さらに、これらのシンポジウムにおいて新規の共同研究を開拓し、研究領域内で共有する設備を利用した共同研究体制を推進していくことにも努めてきた。

## 7. 総括班評価者による評価（2 ページ程度）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

### 【国際高等研究所・チーフリサーチフェロー：森川 耿右 氏からのコメント】

X 線結晶構造解析や NMR 解析等の立体構造解析技術は蛋白質の機能構造相関に研究に絶大な威力を発揮し、構造生物学という名で分子生物学の中心的分野を形成してきた。しかし、10 年ほど前から通常の酵素蛋白質のように特定の固い立体構造をもたないが、長いペプチド鎖からなる蛋白質が生体内に多数存在し、様々な機能発現に関わることが明らかにされてきた。こうした多くの事例は蛋白質の構造に関して「思い込み」的な従来の研究視点に変更を迫る状況になってきた。実際、蛋白質研究のこの新しい事態は国際的にも重視されつつあり、「Intrinsically Disordered Proteins」という国際科学雑誌が数年前に発刊されている。日本においても当該新領域のメンバーの一人が上記の特徴をもつタンパク質を「天然変性タンパク質」と命名し、集中的な研究が必要であることを強調した。こうして、日本においても研究分野の枠を越えて構造生物学、分子生物学、生物物理学、バイオインフォマティクスなどを結集する研究集団の形成の必要性が認識されることとなった。結果的に、当新学術領域がその大役をまさに一手に引き受ける研究集団となった。本評価者は当新学術領域が組織した領域会議、国際シンポジウムのほとんどに参加して、研究進捗状況についても注意深く見守ってきた。中間評価までの小生のコメントは既に文書化されているので、ここではその後の飛騨高山市で開催された平成 25 年度領域会議と 2014 年に開催された九州大学での第 3 回公開シンポジウムの印象を中心に意見を述べてみたい。天然変性タンパク質の厳密な定義は構成アミノ酸数や機能の観点からは不可能であり、それが分子生物学者、細胞生物学者に新領域の意義がもうひとつ浸透しない理由であるように思われる。一方、ヒト等高等生物の細胞核内におけるヒストンや転写共役因子などのクロマチン関連蛋白質では天然変性タンパク質の海の中に固い機能ドメインが浮かんでいるようなものが多数存在する。今後はこうしたターゲットに集中する方が、構造関係以外の研究者にも天然変性タンパク質の問題意識が明確になるように思われる。特に、発生、分化、再生医学の基礎的背景としてエピジェネティクスの分子機構の研究は極めて重要となるが、例えばクロマチンのデコード（読み取り）機構などには天然変性蛋白質の重要課題が充満している。

会議からの具体的印象としては、天然変性タンパク質の機能構造の本質から分野間の協力はスムーズに行われていることが実感された。特に、Coupled folding and binding（結合と連結した折り畳まり）の詳細な機構については X 線構造解析、NMR 解析、分子動力学の連携で注目すべき成果が出ている。また、生物学的現象として天然変性タンパク質の重要性が確信される一方、分子レベルでの解析が待たれる課題も散見された。継続的研究が望まれる。技術的側面では、ミオシン V のアクチン繊維上の二足歩行を実証に導いた高速 AFM の期待が大きい。今後測定基盤を改善して天然変性タンパク質と他分子の相互作用を視覚化できる技術にまで発展することを期待したい。X 線小角散乱 (SAXS) 技術は天然変性タンパク質解析にとって格別有効な手段であり、若手育成の観点からも講習会などを通じて技術普及に努めていることを高く評価したい。また、この技術の使用頻度も増加しており成果も着実に上がっている。

最後に、天然変性タンパク質に関連した本評価者の個人的見通しを述べてみたい。細胞核内のヒストンテイルは言うまでもなく、高等生物の天然変性タンパク質におけるメチル化、アセチル化、リン酸化、ユビキチン化等の翻訳後修飾の意義は今後急速に重要になるであろう。更に、近年全ゲノムの 70-80% は RNA として転写されることが確立しているが、long non-coding RNA と天然変性タンパク質は強い関係性をもつものと推測する。特に、エンハンサー RNA と天然変性タンパク質の関係性は発生、分化研究

にとって重要と認識している。一般に、高等生物の細胞核内は極めて動的であり、蛋白質、DNA、RNAなどが動的平衡状態になっているものと推測する。その観点から天然変性タンパク質の物理化学的性質、翻訳後修飾、RNAとの相互作用を中心にした新学術領域の立ち上げを切に望むものである。

### 【大阪大学蛋白質研究所・所長：中村 春木 氏からのコメント】

平成21年度から平成25年度までの5年間の本新学術領域研究では、1990年代後半に新たに発見された「天然変性タンパク質」に焦点を絞り、その構造的側面と機能的側面に対して、分子生物学、構造生物学、生物物理学、バイオインフォマティクスなどの様々な分野の研究者が異なるアプローチで研究を行った。初期の目的である「構造生物学、情報生物学、分子生物学の研究者が有機的に連携し、天然変性タンパク質の分子認識と機能発現機構を解明することによって、次世代の生命科学の礎となる構造生物学、分子生物学、情報生物学の融合した新領域を構築していくこと」には、科学的解明と新領域の構築という2つの側面があった。毎年行われた領域会議およびISIDP国際シンポジウム等における発表と研究業績リストから理解されるように、「分子認識と機能発現機構の解明」については極めて有意義な研究が様々な分野においてなされたと考えられる。

一方、天然変性タンパク質とそのパートナー分子を対象として全く新規に本領域の計画班研究者が構築したデータベース (IDEAL) は、他のデータベースに比して極めて正確に実験結果がアノテートされており、また蛋白質間相互作用 (PPI) ネットワーク情報も含んだものに成長した。さらに本領域の計画班研究者による溶媒も含んだ全原子シミュレーションによる **Coupled folding and binding** (結合と連結した折り畳まり) の解析は、本領域の他の班員による NMR 実験結果を良く説明し、次の研究ステップへの課題を提供した。このように、情報生物学の班員の研究が、構造生物学と分子生物学の研究の架け橋となり、新領域の構築がなされたと言える。本領域では、新たな学問分野としての現象が極めて明確であるため、異なるアプローチの融合は、わざわざ強制するまでもなく自然と実施されており、融合の結果産まれたと思われる研究も多く、本領域の研究は、新学術領域研究としてたいへん成功した一例と言えよう。

今後は、さらなるサイエンスとしての研究の継続と同時に、天然変性タンパク質を対象とした創薬や、天然変性タンパク質が関連する疾病における発症メカニズムや遺伝病との関連など、薬学・臨床医学における応用研究などに発展が期待される分野であり、本新学術領域研究において活躍した計画研究および公募研究の班員が、その研究を活かしてさらに研究を進展させていくことが望まれる。

## 8. 主な研究成果（発明及び特許を含む）【研究項目毎または計画研究毎に整理する】

（3 ページ程度）

新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（発明及び特許を含む）について、現在から順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目毎に計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。

### A01：計画研究「天然変性タンパク質の新規構造解析法の開発」代表者：佐藤 衛

1. Y. Arimura, H. Kimura, T. Oda, K. Sato, A. Osakabe, H. Tachiwana, Y. Sato, Y. Kinugasa, T. Ikura, M. Sugiyama, M. Sato, and H. Kurumizaka, Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin, *Sci. Rep.*, **3**, 2013, 3510.  
転写及び DNA 修復・複製時に一時的にクロマチンに取り込まれるヒストンバリエント H2A.B を含むヌクレオソームの溶液構造をX線溶液散乱法を用いて解析した。その結果、H2A.B ヌクレオソームでは通常のヌクレオソームと比較して巻きついている DNA の両端がヒストン 8 量体から剥がれて大きく揺らぎ、天然変性タンパク質のような揺らいだ状態にあることを示した。
2. K. Arita, S. Isogai, T. Oda, M. Unoki, K. Sugita, N. Sekiyama, K. Kuwata, R. Hamamoto, H. Tochio, M. Sato, M. Ariyoshi, and M. Shirakawa, Recognition of modification status on a histone H3 tail by linked histone reader modules of the epigenetic regulator UHRF1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 2012, 12950-12955.  
UHRF1 タンパク質は天然変性領域を含むマルチドメインタンパク質である。X線結晶構造解析およびX線溶液散乱を用いて、天然変性領域を含む UHRF1 の構造形成のメカニズムを明らかにし、柔らかい ID 領域で結ばれたドメインによるエピジェネティックの認識機構を明らかにした。さらに天然変性領域のリン酸化修飾による機能変換機構を明らかにした。
3. H. Tachiwana, W. Kagawa, T. Shiga, A. Osakabe, Y. Miya, K. Saito, Y. Hayashi-Takanaka, T. Oda, M. Sato, S.-Y. Park, H. Kimura, and H. Kurumizaka, Crystal structure of the human centromeric nucleosome containing CENP-A, *Nature* **476**, 2011, 232-235.  
セントロメア特異的なヒストン H3 バリエントである CENP-A を含むヌクレオソームのX線結晶構造解析、生化学的解析、X線溶液散乱解析を行い、CENP-A を含むヌクレオソームの DNA の末端がヒストン八量体から大きく剥がれてディスオーダーしていることを見出し、この DNA の末端の揺らぎとセントロメア領域におけるクロマチン構造形成との関連を明らかにした。
4. Y. Kokabu, Y. Murayama, N. Kuwabara, T. Oroguchi, H. Hashimoto, Y. Tsutsui, N. Nozaki, S. Akashi, S. Unzai, T. Shimizu, H. Iwasaki, M. Sato, and M. Ikeguchi, Fission Yeast Swi5-Sfr1 Protein Complex, an Activator of Rad51 Recombinase, Forms an Extremely Elongated Dogleg-shaped Structure, *J. Biol. Chem.* **286**, 2011, 43569-43576.  
X線溶液散乱法を用いて分裂酵母の相同組換えの中心的な反応である鎖交換反応に関与する Swi5、Swi5-Sfr1 及び Swi5-Sfr1 $\Delta$ N177 の溶液構造を決定した。さらに、Swi5-Sfr1 に Sfr1 の特異的な部位と相互作用する Fab を結合させた Swi5-Sfr1-Fab の X 線溶液散乱を測定し、天然変性領域を含む全長 Sfr1 と結合する Sfr1 の位置と化学量論比を特定した。さらに細長い形状をした Swi5-Sfr1 複合体の末端部分に Sfr1 の N 末端がある事を明らかにした。
5. K. Hara, H. Hashimoto, Y. Murakumo, S. Kobayashi, T. Kogame, S. Unzai, S. Akashi, S. Takeda, T. Shimizu and M. Sato, Crystal structure of human REV7 in complex with human REV3 fragment and structural implication of the interaction between DNA polymerase  $\zeta$  and REV1, *J. Biol. Chem.* **285**, 2010, 12299-12307.  
REV7、REV1、REV3 は互に協同して働く DNA 損傷乗越え型 DNA ポリメラーゼで DNA 損傷乗越え型 DNA ポリメラーゼで、その中で REV7-REV3 複合体のX線結晶構造解析に成功した。その結果、単独では天然変性状態にある REV7 の C 末端領域は REV3 と相互作用すると高次構造が誘起される Coupled folding and binding (結合と連結した折り畳み)機構で相互作用していることを明らかにした。さらに、REV7-REV3 複合体と REV1 との相互作用解析を行い、ヒト REV7、REV3、REV1 は、REV7 を介して三者複合体 (Pol $\zeta$ -REV1 複合体)を形成することを示した。
6. 抗 PAD4 抗体医薬の創成、佐藤 衛、清水敏之、山田道之、金澤 智、公立大学法人横浜市立大学、公立大学法人名古屋市立大学、特願 2010-185734, 2010/8/23, PCT/JP2011/68022, 2011/8/8, 国外

### A01：計画研究「天然変性タンパク質の動的構造解析」代表者：明石知子

1. Saikusa, K., Fuchigami, S., Takahashi, K., Asano, Y., Nagadoi, A., Tachiwana, H., Kurumizaka, H., Ikeguchi, M., \*Nishimura, Y., Akashi, S. “Gas-phase structure of the histone multimers characterized by ion mobility mass spectrometry and molecular dynamics simulation.” *Anal. Chem.*, **85**, 2013, 4165-4171.

構造が未決定のヒストン多量体の気相における構造について、イオンモビリティ質量分析と分子動力学シミュレーションを組み合わせて用いることで解析し、気相における天然変性領域の振る舞いについて考察した。計画研究班内での共同研究の成果である。

2. Saikusa, K., Kuwabara, N., Kokabu, Y., Inoue, Y., Sato, M., Iwasaki, H., Shimizu, T., Ikeguchi, M., Akashi, S. “Characterisation of an intrinsically disordered protein complex of Swi5-Sfr1 by ion mobility mass spectrometry and small-angle X-ray scattering.” *Analyst*, **138**, 2013, 1441-1449.  
天然変性タンパク質は結晶化が困難であり、従来の構造解析法では不十分であることから、イオンモビリティ質量分析を用いて解析することで、天然変性タンパク質の衝突断面積を実験から求め、X線小角散乱で得られる溶液構造と比較する手法を構築した。研究領域内の共同研究の成果である。この論文の発行後、フランス CNRS の研究者から申し出があり天然変性タンパク質について共同研究を開始した。
3. 線維筋痛症の予防または治療薬、西村善文、植田弘師、公立大学法人横浜市立大学、国立大学法人長崎大学、PRISM BioLab 株式会社、特願 2012-267599 号, A11178, 2012/12/6, 国内
4. 神経選択的転写抑制因子 NRSF に特異的に結合する mSin3B に結合する化合物の利用、西村善文、長土居有隆、平尾優佳、五嶋良郎、山下直也、植田弘師、宮田直樹、鈴木孝禎、平石龍大、公立大学法人横浜市立大学、公立大学法人名古屋市立大学、国立大学法人長崎大学、特願 2010-27066 号, PCT/JP2011/52710, 2011/2/9, 国外

#### A02 : 計画研究「組換え酵素における天然変性領域の機能」代表者 : 柴田武彦

1. Kagawa, W., Arai, N., Ichikawa, Y., Saito, K., Sugiyama, S., Saotome, M., Shibata, T., Kurumizaka, H., “Functional analyses of the C terminal half of the *Saccharomyces cerevisiae* Rad52 protein.” *Nucleic Acids Res.*, **42**, 941-951 (2014)  
Rad51 組換え酵素と共に働く Rad52 の C 末端側天然変性ドメインにある Rad51 への結合に働くアミノ酸を2ヶ所2個同定した。その一つは、自身の重合に働く Rad51 の N 末端近くの天然変性領域と共通のアミノ酸配列モチーフ内であった。これら2つのアミノ酸残基での Rad51 との相互作用は、Rad51 の重合を解離した。また、この相互作用は Rad52 のメディアーター機能に重要であることを明らかにして、単鎖 DNA 結合タンパク質が結合している単鎖 DNA に Rad52 を載せるといふ Rad52 の組換えメディアーター機能には Rad51 重合体の解離が働くことを初めて示唆した。
2. Miura, T., Shibata, T., Kusano, K., “Putative antirecombinase Srs2 DNA helicase promotes noncrossover homologous recombination avoiding loss of heterozygosity.” *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 16067-16072 (2013)  
Miura *Genetics* 2012 で開発した SDSA 型相同組換えをホリデー中間体経路で交叉体を生じる相同組換えと区別して計測する系を用いた Srs2 の変異解析で、交叉型組換え抑制には、その天然変性領域にある特定部位での Rad51 との相互作用が必要であること、その相互作用が SDSA による相同組換え促進にも必要であることを明らかにした。さらに、Srs2 変異解析結果は、ホリデー中間体を経由する組換え経路の Szostak モデルでは説明困難で、第2 端捕捉が、修復合成前の第2 の相同 DNA 対合で起こるといふ新モデルを提案した。さらに、全く意外な成果として SDSA アッセイが基質 DNA を換えるだけで、NHEJ (非相同末端結合) を計測できるという特徴を生かして、従来相同組換えだけに働くとされていた Rad51 が、NHEJ の正確さを保つ機能を持つことを明らかにした。
3. Miura, T., Yamana, Y., Usui, T., Ogawa, H. I., Yamamoto, M.-T., Kusano, K., “Homologous recombination via synthesis-dependent strand annealing in yeast requires the Irc20 and Srs2 DNA helicases.” *Genetics*, **191**, 65-78 (2012)  
SDSA 型相同組換えを、ホリデー中間体を経て交叉型組換え体を生じる相同組換えと切り離して計測する系を初めて開発できた。この系を用いた相同組換えの解析によって、抗組換え酵素と言われていた Srs2 DNA ヘリカーゼは、LOH (ヘテロ接合性喪失) の原因となる交叉型組換えを抑制すること、SDSA 経路による相同組換えには必要であることが初めて示された。
4. Arai, N., Kagawa, W., Saito, K., Shingu, Y., Mikawa, T., Kurumizaka, H., Shibata, T., “Vital roles of the second DNA-binding site of Rad52 protein in yeast homologous recombination.” *J. Biol. Chem.*, **286**, 17607-17617 (2011)  
組換えメディアーターの原型である Rad51 は C 末端天然変性ドメインと種間で構造が保存された N 末端 DNA 結合ドメインがある。この N 末端ドメインでの DNA 結合が、我々が明らかにした Rad52 の Rad51 組換え酵素活性促進には必要であるが、Rad52 の組換えメディアーター機能には不要であることを明らかにした。この成果で、Rad52 のメディアーター機能には、C 末端天然変性ドメインが働くのではないかと示唆を得た。
5. 酸化ストレスインジケーター発現用核酸構築物とその使用、及川大輔、岩脇隆夫、理化学研究所、PCT/JP2012/051738, 2012 年 1 月 20 日, 外国



- オリゴヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドを有効成分として含有する脂質異常症治療剤, 鳥越秀峰, 佐々木澄美他, 東京理科大学・大阪大学・国立循環器病センター, 特願 2010-195187 号, 2010 年 8 月 31 日, 国内. PCT/JP2011/069818 号, 2013 年 2 月 28 日, 米国・欧州に段階移行
- 標的タンパク質の量の低減のためのポリペプチド・単離された核酸・組み換えベクター及び形質転換体, 鳥越秀峰, 立澤桜子, 東京理科大学, 特願 2014-045698 号, 2014 年 3 月 7 日, 国内.

#### A02 : 計画研究「核内ネットワークを制御する天然変性タンパク質の機能発現」代表者 : 石野良純

- Ishino, S., Yamagami, T., Kitamura, K., Koder, N., Mori, T., Sugiyama, S., Ando, T., Goda, N., Tenno, T., Hiroaki, H., Ishino, Y. Multiple interactions of the intrinsically disordered region between the helicase and the nuclease domains of the archaeal Hef protein. *J. Biol. Chem. Revised submission.* (2014)  
DNA 複製フォークの停止修復のキータンパク質である Hef の天然変性状態と予想される領域 (100 aa) の構造解析を行い、実際に天然変性状態であることを示すとともに、その領域に PCNA と RecJ 様のヌクレアーゼが結合することを示した。天然変性領域は構造を変化させることによって、この両タンパク質と相互作用し、修復過程を進めることを提唱した。
- Oyama, T., Ishino, S., Fujino, S., Ogino, H., Shirai, T., Mayanagi, K., Saito, M., Nagasawa, N., Ishino, Y., and Morikawa, K. Architectures of archaeal GINS complexes, essential DNA replication initiation factors. *BMC Biol.* **9**:28. (2011)  
Ogino, H., Ishino, S., Mayanagi, K., Haugland, G. H., Birkeland, N-K., Yamagishi, A., and Ishino, Y. The GINS complex from the thermoacidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum* may function as a homotetramer in DNA replication. *Extremophiles* **15**, 529-539. (2011)  
この 2 報は、DNA 複製開始過程と伸長過程の両方で重要な役目を担う GINS 複合体形成タンパク質中の天然変性状態領域の存在を証明し、その領域が選択的 4 量体形成に果たす役割を解明したものである。この領域と相互作用する因子の存在についても引き続き調べている。
- Yang, Y., Ishino, S., Yamagami, T., Kumamaru, T., Satoh, H., and Ishino, Y. The OsGEN-L protein from *Oryza sativa* possesses Holliday junction resolvase activity as well as 5'-flap endonuclease activity. *J. Biochem.* **151**, 317-327. (2012)  
イネの相同組換え中間体解消酵素候補である OsGEN-L について、遺伝子クローニング、組換えタンパク質の精製及び、詳細な性質解析を行なった。このタンパク質には長鎖の天然変性領域が存在すると予想され、相互作用タンパク質の同定が待たれる。
- Ichikawa, Y., Morohashi, N., Nishimura, Y., Kurumizaka, H., Shimizu, M. Telomeric Repeats Act as Nucleosome-disfavouring Sequences *In Vivo*, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 1541-1552 (2014)  
天然変性タンパク質ヒストンから構成されるヌクレオソームの形成とダイナミクスの解析を行い、テロメアにおけるヌクレオソームの動態に関する連携研究を行い、ヒトおよび出芽酵母のテロメアリピートが *in vivo* ヒストン 8 量体ヌクレオソームを排除する性質を有することを明らかにした。
- Hisaoka, M., Nagata, K., Okuwaki, M. Intrinsically disordered regions of nucleophosmin/B23 regulate its RNA binding activity through their inter- and intra-molecular association. *Nucl. Acids Res.* **42**, 1180-1195 (2014)  
核小体タンパク質 B23 の天然変性領域の同定と RNA 結合の制御に関して、B23 は多量体を形成してヒストンシャペロンとして機能し、精子クロマチン脱凝縮活性を示すことを生化学的、構造生物学的に明らかにした。

#### A03 : 計画研究「計算科学による核内タンパク質天然変性状態の構造多型解析」代表者 : 肥後順一

- J. Higo, K. Umezawa. "Free-energy landscape of Intrinsically disordered proteins investigated by all-atom multicanonical molecular dynamics," Chapter 14 in "*Protein Conformational Dynamics*" (Han, K., Zhang, X., and Yang, M. eds.). Springer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **805**, 2014, 331-351.  
天然変性蛋白質に応用する立場での全原子マルチカノニカル分子動力学を解説すると同時に、coupled folding and binding の自由エネルギー地形の特徴を解説した。
- J. Higo, K. Umezawa, H. Nakamura. "A virtual-system coupled multicanonical molecular dynamics simulation: Principle and its application to free-energy landscape of protein-protein interaction with an all-atom model in explicit solvent." *J. Chem. Phys.*, **138**, 2013, 184106.  
より複雑な天然変性蛋白質とパートナー分子の相互作用にたいして全原子マルチカノニカル分子動力学法を適用するための方法論の開発。全原子マルチカノニカル分子動力学法を仮想系とカップルさせて、サンプリング効率を上

げる。

3. K. Umezawa, J. Ikebe, M. Takano, H. Nakamura, J. Higo. "Conformational Ensembles of an Intrinsically Disordered Protein pKID with and without a KIX Domain in Explicit Solvent Investigated by All-Atom Multicanonical Molecular Dynamics." *Biomolecules*, **2**, 2012, 104-121.  
天然変性蛋白質の関係する複合体として有名な pKID-KIX 複合体の coupled folding and binding を全原子マルチカノニカル分子動力学法で研究した。詳細な自由エネルギー地形を可視化し、複合体形成の過程を明らかにした。
4. J. Higo, J. Ikebe, N. Kamiya, H. Nakamura. "Enhanced and effective conformational sampling of protein molecular systems for their free energy landscapes." *Biophysical Rev.*, **4**, 2012, 27-44.  
全原子分子動力学の理論、手順、発展方向等について述べた。
5. J. Higo, Y. Nishimura, H. Nakamura. "A Free-energy Landscape for Coupled Folding and Binding of an Intrinsically Disordered Protein in Explicit Solvent from Detailed All-atom Computations." *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 2011, 10448-10458.  
天然変性蛋白質の関係する複合体 NRSF-mSin3 複合体の coupled folding and binding を全原子マルチカノニカル分子動力学法で研究した。詳細な自由エネルギー地形を可視化した。最終的に安定な複合体に到達する前の多様な複合体と自由エネルギー地形を明らかにした。計画研究班内での共同研究の成果である。

### A03 : 計画研究「タンパク質天然変性状態の情報基盤の確立と展開」代表者：太田元規

1. S. Fukuchi, H. Hiroaki, M. Ota et al., IDEAL in 2014 illustrates interaction networks composed of intrinsically disordered proteins and their binding partners, *Nucleic Acids Res.*, **42**, 2014, D320-D325, DOI:10.1093/nar/gkt1010  
天然変性タンパク質のデータベース: IDEAL の改訂を行い、天然変性タンパク質とその相互作用パートナーとの複合体や、相互作用ネットワークについて情報を整理しわかりやすく表現した。
2. M. Ota, H. Hiroaki, S. Fukuchi et al., An assignment of intrinsically disordered regions of proteins based on NMR structures., *J. Struct. Biol.*, **181**, 2013, 29-36.  
NMR で決定されたタンパク質モデルの情報を利用し、天然変性領域を抽出する方法を提案した。モデルの揺らぎを測定し、それが 3.2Å 以上の場合に、X線モデルのミッシング領域と最も相関することを示した。
3. S. Fukuchi, H. Hiroaki, M. Ota et al., IDEAL: intrinsically disordered proteins with extensive annotations and literature, *Nucleic Acids Res.*, **40**, 2012, D507-D511.  
天然変性タンパク質について人の手を介した注釈付けを行いデータベース化を行った。結合に伴う折り畳み部位を特に protean segment として積極的に収集した。
4. S. Takeda, M. Ota et al., Actin capping protein and its inhibitor CARMIL: how intrinsically disordered regions function, *Phys. Biol.*, **8**, 2011, 035005, DOI:10.1088/1478-3975/8/3/035005  
天然変性タンパク質, CARMIL がアクチンキャッピングタンパク質に結合すると、基準振動解析の最低振動モードを著しく変更することを全ての既知複合体を利用して系統的に検証した。
5. S. Fukuchi et al., Binary classification of protein molecules into intrinsically disordered and ordered segments, *BMC Structural Biology.*, **11**, 2011, 29  
タンパク質配列の連続した部位を、構造ドメイン、天然変性領域に2分するプログラム: DICHOT を開発し、その性能について報告した。DICHOT は構造ドメイン、天然変性領域を部位毎に予測せず、あるていどまとまった連続領域について予測するので、ユーザが結果を解釈しやすいという特徴を持つ。
6. H. Hiroaki, et al., A Simplified Recipe for Assigning Amide NMR Signals Using Combinatorial <sup>14</sup>N Amino Acid Inverse-Labeling, *J Structural Functional Genomics.*, **12**, 2011, 167-174.  
<sup>15</sup>N-<sup>1</sup>H HSQC 上での NMR シグナルの重複問題に対応するための測定プロトコルを提案した。<sup>15</sup>N 硫酸アンモニウムを単一窒素源とする最少培地で大腸菌を培養する通常の標識法に加えて、タンパク質発現誘導の 30~60 分前に、培地中に非標識のアミノ酸を投入すると、特定のアミノ酸や組合せについては、大腸菌のアミノ酸代謝系による希釈が起こらずに、シグナルを逆標識することができる。その情報を利用すると、NMR シグナルの帰属が容易になった。天然変性タンパク質の例として Aβ(1-40)を用いて、NMR シグナル解析を実施した。
7. タンパク質凍結保存用保護剤, 廣明秀一、天野名都子、松尾直紀、太田元規、福地佐斗志、岩村佳奈, 特願 2014-033169 号, 2014 年 02 月 24 日, 国内

## 9. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ程度）

新学術領域研究（公募研究含む）の研究課題を元に発表した研究成果（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。論文の場合、現在から順に発表年次をさかのぼり、計画研究・公募研究毎に順に記載し、研究代表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に\*印を付してください。また、一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

### 主な論文（査読有）

#### 計画研究

1. Y. Hizukuri, T. Oda, S. Tabata, K. Tamura-Kawakami, R. Oi, M. Sato, J. Takagi, Y. Akiyama, and T. Nogi, A Structure-Based Model of Substrate Discrimination by a Noncanonical PDZ Tandem in the Intramembrane-Cleaving Protease RseP, *Structure*, 22, 2014, 326-336
2. N. Kodera and T. Ando, The Path to Visualization of Walking Myosin V by High-speed Atomic Force Microscopy, *Biophys. Rev.*, (accepted)
3. Y. Shibafuji, A. Nakamura, T. Uchihashi, N. Sugimoto, S. Fukuda, H. Watanabe, M. Samejima, T. Ando, H. Noji, A. Koivula, K. Igarashi, and R. Iino, Single-molecule Imaging Analysis of Elementary Reaction Steps of Trichoderma Reesei Cellobiohydrolase I (Cel7A) Hydrolyzing Crystalline Cellulose, *J. Biol. Chem.* (in press)
4. K. Igarashi, T. Uchihashi, T. Uchiyama, H. Sugimoto, M. Wada, K. Suzuki, S. Sakuda, T. Ando, T. Watanabe, and M. Samejima, Two-way Traffic of Glycoside Hydrolase Family 18 Processive Chitinases on Crystalline Chitin, *Nature Communications* (in press)
5. T. Ando, T. Uchihashi, and S. Scheuring, "Filming Biomolecular Processes by High-speed Atomic Force Microscopy", *Chem. Rev.*, 114, 2014, 3120-3188
6. Nakamura, H. Watanabe, T. Ishida, T. Uchihashi, M. Wada, T. Ando, K. Igarashi, and M. Samejima, Trade-off between Processivity and Hydrolytic Velocity of Cellobiohydrolases at the Surface of Crystalline Cellulose, *J. Am. Chem. Soc.*, 136, 2014, 4584-4592
7. Furukawa, A., Sugase, K., Morishita, R., Nagata, T., Kodaki, T., Takaori-Kondo, A., Ryo, A., Katahira, M., Quantitative analysis of location- and sequence-dependent deamination by APOBEC3G using real-time NMR spectroscopy. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 53, 2014, 2349-2352.
8. M. Mizuguchi, T. Fujii, T. Obita, M. Ishikawa, M. Tsuda, and A. Tabuchi, Transient  $\alpha$ -helices in the disordered RPEL motifs of the serum response factor coactivator MKL1, *Sci. Rep.*, 2014, in press
9. M. Mizuguchi, T. Obita, T. Serita, R. Kojima, Y. Nabeshima, and H. Okazawa, Mutations in the PQBP1 gene prevent its interaction with the spliceosomal protein U5-15kD, *Nat. Commun.*, 5, 2014, 3822
10. T. Yokoyama, A. Ostermann, M. Mizuguchi, N. Niimura, T.E. Schrader, and I. Tanaka, Crystallization and preliminary neutron diffraction experiment of human farnesyl pyrophosphate synthase complexed with risedronate, *Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Commun.*, 70, 2014, 470-472
11. T. Yokoyama, Y. Kosaka, and M. Mizuguchi, Crystal structures of human transthyretin complexed with glabridin, *J. Med. Chem.*, 57, 2014, 1090-1096
12. Kagawa, W., Arai, N., Ichikawa, Y., Saito, K., Sugiyama, S., Saotome, M., Shibata, T. and Kurumizaka, H., Functional analyses of the C terminal half of the *Saccharomyces cerevisiae* Rad52 protein, *Nucleic Acids Res.*, 42, 2014, 941-951
13. Tanabe, M., Ishino, S., Ishino, Y. and Nishida, H., Mutations of Asp540 and the domain-connecting residues synergistically enhance *Pyrococcus furiosus* DNA ligase activity. *FEBS Lett.*, 588, 2014, 230-235.
14. Ishino S, Yamagami T, Kitamura M, Kodera K, Mori T, Sugiyama S, Ando T, Goda N, Tenno T, Hiroaki H, and Ishino Y, Multiple interactions of the intrinsically disordered region between the helicase and the nuclease domains of the archaeal Hef protein., under revision for *J. Biol. Chem.*, 2014.
15. Ogino H, Ishino S, Haugland GH, Birkeland N-K, Kohda D, Ishino Y, Activation of the MCM helicase from the thermophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum* by interactions with GINS and Cdc6-2. under revision for *Extremophiles*, 2014
16. Ueshima S, Nagata K, \*Okuwaki M. Upstream binding factor-dependent and pre-rRNA transcription-independent association of pre-rRNA processing factors with rRNA gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 443(1), 2014, 22-27
17. Hisaoka M, Nagata K, \*Okuwaki M. Intrinsically disordered regions of nucleophosmin/B23 regulate its RNA binding activity through their inter- and intra-molecular association. *Nucl. Acids Res.*, 42(2), 2014, 1180-1195
18. Y. Ichikawa, N. Morohashi, Y. Nishimura, H. Kurumizaka, and M. Shimizu, Telomeric Repeats Act as Nucleosome-disfavouring Sequences In Vivo, *Nucleic Acids Research*, 42, 2014, 1541-1552
19. H. Shirai, K. Ikeda, K. Yamashita, Y. Tsuchiya, J. Sarmiento, S. Liang, T. Morokata, K. Mizuguchi, J. Higo, D. M. Standley, H. Nakamura. High-resolution modeling of antibody structures by a combination of bioinformatics, expert knowledge, and molecular simulations. *Proteins*, in press. 2014.
20. T. Sugihara, J. Higo, H. Nakamura. Local representation of N-body Coulomb energy with path integrals. *J. Phys. Soc. Jpn.*, 83, 2014, 063001.
21. Q-M Nie, A. Togashi, T. N. Sasaki, M. Takano, M. Sasai, and T. P. Terada, Coupling of Lever Arm Swing and Biased Brownian Motion in Actomyosin, *PLoS. Comput. Biol.*, 10, 2014, e1003552.
22. R. Koike, M. Ota & A. Kidera, Hierarchical description and extensive classification of protein structural changes by Motion Tree, *J. Mol. Biol.*, 426, 2014, 752-762
23. S. Fukuchi, T. Amemiya, S. Sakamoto, Y. Nobe, K. Hosoda, Y. Kado, S. D. Murakami, R. Koike, H. Hiroaki & M. Ota, IDEAL in 2014 illustrates interaction networks composed of intrinsically disordered proteins and their binding partners, *Nucleic Acids Res.*, 42, 2014, D320-D325
24. K. Saikusa, N. Kuwabara, Y. Kokabu, Y. Inoue, M. Sato, H. Iwasaki, T. Shimizu, M. Ikeguchia and S. Akashi, Characterisation of an intrinsically disordered protein complex of Swi5-Sfr1 by ion mobility mass spectrometry and small-angle X-ray scattering, *Analyst*, 138, 2013, 1441-1449
25. K. Nozawa, R. Ishitani, T. Yoshihisa, M. Sato, F. Arisaka, S. Kanamaru, N. Dohmae, D. Mangroo, B. Senger, H. D. Becker and O.

- Nureki, Crystal structure of Cex1p reveals the mechanism of tRNA trafficking between nucleus and cytoplasm, *Nucleic Acids Research*, 41, 2013, 3901-3914
26. J. Trehwella, W. A. Hendrickson, G. J. Kleywegt, A. Sali, M. Sato, T. Schwede, D. I. Svergun, J. A. Tainer, J. Westbrook, and H. M. Berman, Report of the wwPDB Small-Angle Scattering Task Force: Data Requirements for Biomolecular Modeling and the PDB, *Structure*, 21, 2013, 875-881
  27. Y. Arimura, H. Kimura, T. Oda, K. Sato, A. Osakabe, H. Tachiwana, Y. Sato, Y. Kinugasa, T. Ikura, M. Sugiyama, M. Sato, and H. Kurumizaka, Structural basis of a nucleosome containing histone H2A.B/H2A.Bbd that transiently associates with reorganized chromatin, *Sci. Rep.* 3, 2013, 3510; DOI:10.1038/srep03510
  28. K. Noi, D. Yamamoto, S. Nishikori, K. Arita-Morioka, T. Ando, and T. Ogura, High-speed Atomic Force Microscopic Observation of ATP-dependent Rotation of the AAA+ Chaperone p97, *Structure*, 21, 2013, 1992-2002
  29. N. Yilmaz, T. Yamada, P. Greimel, T. Uchihashi, T. Ando, and T. Kobayashi, Real-time Visualization of Assembling of a Sphingomyelin-Specific Toxin", *Biophys. J.*, 105, 2013, 1397-1405
  30. S. Fukuda, T. Uchihashi, R. Iino, Y. Okazaki, M. Yoshida, K. Igarashi, and T. Ando, High-speed Atomic Force Microscope Combined with Single-molecule Fluorescence Microscope, *Rev. Sci. Instrum.*, 84, 2013, 073706
  31. M. Hashimoto, N. Kodera, Y. Tsunaka, M. Oda, M. Tanimoto, T. Ando, K. Morikawa, and S. Tate, Phosphorylation-coupled Intramolecular Dynamics of Unstructured Regions in Chromatin Remodeler FACT, *Biophys. J.*, 104, 2013, 2222-2234
  32. H. Watanabe, T. Uchihashi, T. Kobashi, M. Shibata, J. Nishiyama, R. Yasuda, and T. Ando, Wide-area Scanner for High-speed Atomic Force Microscopy, *Rev. Sci. Instrum.*, 84, 2013, 053702
  33. H. Yamashita, K. Inoue, M. Shibata, T. Uchihashi, J. Sasaki, H. Kandori, and T. Ando, Role of Trimer-trimer Interaction of Bacteriorhodopsin Studied by Optical Spectroscopy and High-speed Atomic Force Microscopy, *J. Struct. Biol.*, 184, 2013, 2-11
  34. T. Ando, Molecular Machines Directly Observed by High-speed Atomic Force Microscopy, *FEBS Lett.*, 587, 2013, 997-1007
  35. T. Ando, T. Uchihashi, and N. Kodera, High-speed AFM and Applications to Biomolecular Systems, *Annu. Rev. Biophys.*, 42, 2013, 393-414
  36. T. Ando, High-speed Atomic Force Microscopy, *Microscopy*, 62, 2013, 81-93
  37. N. Azegami, K. Saikusa, Y. Todokoro, H. Kurumizaka, A. Nagadoi, Y. Nishimura, S. Akashi, Conclusive evidence of the reconstituted hexasome proved by native mass spectrometry, *Biochemistry*, 52, 2013, 5155-5157.
  38. K. Saikusa, S. Fuchigami, K. Takahashi, Y. Asano, A. Nagadoi, H. Tachiwana, H. Kurumizaka, M. Ikeguchi, Y. Nishimura, S. Akashi, Gas-phase structure of the histone multimers characterized by ion mobility mass spectrometry and molecular dynamics simulation, *Anal. Chem.*, 85, 2013, 4165-4171.
  39. K. Saikusa, N. Kuwabara, Y. Kokabu, Y. Inoue, M. Sato, H. Iwasaki, T. Shimizu, M. Ikeguchi, S. Akashi, Characterisation of an intrinsically disordered protein complex of Swi5-Sfr1 by ion mobility mass spectrometry and small-angle X-ray scattering, *Analyst*, 138, 2013, 1441-1449.
  40. Sugase, K., Konuma, T., Lansing, J.C., Wright, P.E., Fast and accurate fitting of relaxation dispersion data using the flexible software package GLOVE. *J. Biomol. NMR*, 56, 2013, 275-283.
  41. Y. Ichikawa, N. Morohashi, Y. Nishimura, H. Kurumizaka, M. Shimizu, Telomeric repeats act as nucleosome-disfavouring sequences in vivo. *Nucleic Acids Res.*, 2013, 1-12.
  42. N. Azegami, K. Saikusa, Y. Todokoro, H. Kurumizaka, A. Nagadoi, Y. Nishimura, S. Akashi, Conclusive evidence of the reconstituted hexasome proved by native mass spectrometry. *Biochemistry*, 52, 2013, 5155-5157.
  43. K. Saikusa, S. Fuchigami, K. Takahashi, Y. Asano, A. Nagadoi, H. Tachiwana, H. Kurumizaka, M. Ikeguchi, Y. Nishimura, S. Akashi, Gas-phase structure of the histone multimers characterized by ion mobility mass spectrometry and molecular dynamics simulation. *Anal. Chem.*, 85, 2013, 4165-4171.
  44. Miura, T., Shibata, T. and Kusano, K., Putative antirecombinase Srs2 DNA helicase promotes noncrossover homologous recombination avoiding loss of heterozygosity, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 2013, 16067-16072
  45. Morozumi, Y., Ino, R., Ikawa, S., Mimida, N., Shimizu, T., Toki, S., Ichikawa, H., Shibata, T. and Kurumizaka, H., Homologous pairing activities of two rice RAD51 proteins, RAD51A1 and RAD51A2, *PLoS ONE*, 8, 2013, e75451, DOI 10.1371/journal.pone.0075451
  46. Yamanishi, A., Yusa, K., Horie, K., Tokunaga, M., Kusano, K., Kokubu, C. and Takeda, J., Enhancement of microhomology-mediated genomic rearrangements by transient loss of mouse Bloom syndrome helicase, *Genome Res.*, 23, 2013 1462-1473
  47. Ishino, S., Kelman, L.M., Kelman, Z., and Ishino, Y., The archaeal DNA replication machinery: past, present and future. *Genes Genet. Syst.*, 88, 2013, 315-319.
  48. Tori, K. Ishino, S., Kiyonari, S., Tahara, S., and Ishino, Y. (A novel single-strand specific 3'-5' exonuclease found in the hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus furiosus*. *PLoS ONE*, 8, 2013, e58497.
  49. Komaki-Yasuda K, Okuwaki M, Nagata K, Kawazu S, Kano S. Identification of a novel and unique transcription factor in the intraerythrocytic stage of *Plasmodium falciparum*. *PLoS One*, 8(9), 2013, e74701
  50. J. Higo, K. Umezawa, H. Nakamura. A virtual-system coupled multicanonical molecular dynamics simulation: Principle and its application to free-energy landscape of protein-protein interaction with an all-atom model in explicit solvent. *J. Chem. Phys.*, 138, 2013, 184106.
  51. Matsushita, K. and Kikuchi, M. Short polypeptide with metastable structure. *Interdisciplinary Information Sciences*. 19, 2013.
  52. Matsushita, K. and Kikuchi, M. Frustration-induced protein intrinsic disorder. *J. Chem. Phys.* 138, 2013, 105101.
  53. Shirai, N.C. and Kikuchi, M. Structural flexibility of intrinsically disordered proteins induces stepwise target recognition. *J. Chem. Phys.* 139, 2013, 225103.
  54. Matsushita, K. and Kikuchi, M. Multicanonical simulation of coupled folding and binding of intrinsically disordered protein using an Ising-like protein model. *J. Phys. Conf. Ser.* 454, 2013, 012034.
  55. Shirai, N.C. and Kikuchi, M. Structural flexibility of intrinsically disordered proteins induces stepwise target recognition. *J. Chem. Phys.* 139, 2013, 225103.
  56. T. Tenno, N. Goda, Y. Umetsu, M. Ota, K. Kinoshita & H. Hiroaki, Accidental interaction between PDZ domains and diclofenac

- revealed by NMR-assisted virtual screening, *Molecules*, 18, 2013, 9567-9581
57. Y. Kanematsu, R. Koike, T. Amemiya & M. Ota, Substrate-shielding and hydrolytic reaction in hydrolases, *Proteins*, 81, 2013, 926-932
  58. M. Ota, R. Koike, T. Amemiya, T. Tenno, P. R. Romero, H. Hiroaki, A. K. Dunker, & S. Fukuchi, An assignment of intrinsically disordered regions of proteins based on NMR structures., *J. Struct. Biol.*, 181, 2013, 29-36
  59. N. Kuwabara, Y. Murayama, H. Hashimoto, Y. Kokabu, M. Ikeguchi, M. Sato, K. Mayanagi, Y. Tsutsui, H. Iwasaki, and T. Shimizu, Mechanistic insights into the activation of Rad51-mediated strand exchange from the structure of a recombination activator, the Swi5-Sfr1 complex, *Structure*, 20, 2012, 440-449
  60. Y. Arimura, H. Tachiwana, T. Oda, M. Sato, H. Kurumizaka, Structural Analysis of the Hexasome, Lacking One Histone H2A/H2B Dimer from the Conventional Nucleosome. *Biochem.*, 51, 2012, 3302-3309
  61. T. Yoshizawa, T. Shimizu, H. Hirano, M. Sato, H. Hashimoto, Structural basis for the inhibition of xyloglucan-specific endo- $\beta$ -1,4-glucanase (XEG) by XEG-protein inhibitor, *J. Biol. Chem.*, 287, 2012, 18710-18716
  62. S. Kikuchi, K. Hara, T. Shimizu, M. Sato, H. Hashimoto, Crystallization and X-ray diffraction analysis of the ternary complex of the C-terminal domain of human REV1 in complex with REV7 bound to a REV3 fragment involved in translesion DNA synthesis, *Acta Crystallogr.*, F68, 2012, 962-964
  63. S. Kikuchi, K. Hara, T. Shimizu, M. Sato, H. Hashimoto, Structural basis of recruitment of DNA polymerase by interaction between REV1 and REV7 proteins, *J. Biol. Chem.*, 287, 2012, 33847-33852
  64. K. Arita, S. Isogai, T. Oda, M. Unoki, K. Sugita, N. Sekiyama, K. Kuwata, R. Hamamoto, H. Tochio, M. Sato, M. Ariyoshi, and M. Shirakawa, Recognition of modification status on a histone H3 tail by linked histone reader modules of the epigenetic regulator UHRF1, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 2012, 12950-12955
  65. T. Ando, T. Uchihashi, and N. Kodera, High-speed Atomic Force Microscopy, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 51, 2012, 08KA02
  66. H. Yamashita, A. Taoka, T. Uchihashi, T. Asano, T. Ando, and Y. Fukumori, Single Molecule Imaging on Living Bacterial Cell Surface by High-speed AFM, *J. Mol. Biol.*, 422, 2012, 300-309
  67. T. Uchihashi, N. Kodera, and T. Ando, Guide to Video Recording of Structure Dynamics and Dynamic Processes of Proteins by High-speed Atomic Force Microscopy, *Nat. Protocol*, 7, 2012, 1193-1206
  68. K. Igarashi, T. Uchihashi, A. Koivula, M. Wada, S. Kimura, M. Penttilä, T. Ando, and M. Samejima, Visualization of Cellobiohydrolase I from *Trichoderma reesei* Moving on Crystalline Cellulose Using High-speed Atomic Force Microscopy, *Methods Enzymol.*, 510, 2012, 169-182
  69. T. Ando, High-speed Atomic Force Microscopy Coming of Age", *Nanotechnology*, 23, 2012, 062001
  70. \*M. Okuwaki, A. Sumi, M. Hisaoka, A. Saotome-Nakamura, S. Akashi, Y. Nishimura, K. Nagata, Function of homo- and hetero-oligomers of human nucleoplamin/nucleophosmin family proteins NPM1, NPM2, and NPM3 during sperm chromatin remodeling, *Nucleic Acid Res.*, 40, 2012, 4861-4878.
  71. K. M. Downard, S.D. Maleknia, S. Akashi, Impact of Limited Oxidation on Protein Ion Mobility and Structure of Importance to Footprinting by Radical Probe Mass Spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 26, 2012, 226-230.
  72. H. Yoshida, F. Kawai, E. Obayashi, S. Akashi, D.I. Roper, J.R. Tame, S.Y. Park, Crystal structures of penicillin-binding protein 3 (PBP3) from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the apo and cefotaxime-bound forms, *J. Mol. Biol.*, 423, 2012, 351-364.
  73. Yanagi, K., Sakurai, K., Yoshimura, Y., Konuma, T., Lee Y.H., Sugase, K., Ikegami, T., Naiki, H., Goto, Y., The monomer-seed interaction mechanism in the formation of the  $\beta$ 2-microglobulin amyloid fibril clarified by solution NMR techniques. *J. Mol. Biol.*, 422, 2012, 390-402.
  74. M. Mizuguchi, M. Takeuchi, S. Ohki, Y. Nabeshima, T. Kouno, T. Aizawa, M. Demura, K. Kawano, and K. Yutani, Structural characterization of a trapped folding intermediate of pyrrolidone carboxyl peptidase from a hyperthermophile, *Biochemistry*, 51, 2012, 6089-6096
  75. P. Aqai, C. Fryganas, M. Mizuguchi, W. Haasnoot, and M.W. Nielen, Triple bioaffinity mass spectrometry concept for thyroid transporter ligands, *Anal. Chem.*, 84, 2012, 6488-6493
  76. T. Yokoyama, M. Mizuguchi, Y. Nabeshima, K. Kusaka, T. Yamada, T. Hosoya, T. Ohhara, K. Kurihara, K. Tomoyori, I. Tanaka, and N. Niimura, Hydrogen-bond network and pH sensitivity in transthyretin: Neutron crystal structure of human transthyretin, *J. Struct. Biol.*, 177, 2012, 283-290
  77. M. Ishida, H. Shimojo, A. Hayashi, R. Kawaguchi, Y. Ohtani, K. Uegaki, Y. Nishimura, J. Nakayama, Intrinsic Nucleic Acid-Binding activity of Chp1 Chromodomain Is Required for Heterochromatic Gene, *Mol Cell*, 47, 2012, 228-241.
  78. Miura, T., Yamana, Y., Usui, T., Ogawa, H. I., Yamamoto, M.-T. and Kusano, K., Homologous recombination via synthesis-dependent strand annealing in yeast requires the Irc20 and Srs2 DNA helicases, *Genetics*, 191, 2012, 65-78
  79. Miura, T., Yamana, Y., Usui, T., Ogawa, H. I., Yamamoto, M.-T. and Kusano, K., Homologous recombination via synthesis-dependent strand annealing in yeast requires the Irc20 and Srs2 DNA helicases, *Genetics*, 191, 2012, 65-78
  80. Kuba, Y., Ishino, S., Yamagami, T., Tokuhara, M., Kanai, T., Fujikane, R., Daiyasu., Atomi, H., Ishino, Y., Comparative analyses of the two PCNAs from the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakarensis* *Genes Cells*, 17, 2012, 923-937.
  81. Tanabe M., Ishino, S., Yohda, M., Morikawa, K., Ishino, Y., Nishida, H., Structure-based mutational study of an archaeal DNA ligase towards improvement of ligation activity *ChemBioChem.*, 13, 2012, 2575-2582.
  82. Ishino, S., Kawamura, A., and Ishino, Y., Application of PCNA to processive PCR by reducing the stability of its ring structure. *J. Jap. Soc. Extremophiles.*, 11, 2012, 12-18.
  83. Kawamura, A., Ishino, Y., and Ishino, S., Biophysical analysis of PCNA from *Pyrococcus furiosus*. *J. Jap. Soc. Extremophiles.*, 11, 2012, 19-25.
  84. Yang, Y., Ishino, S., Yamagami, T., Kumamaru, T., Satoh, H., and Ishino, Y., The OsGEN-L protein from *Oryza sativa* possesses Holliday junction resolvase activity as well as 5'-flap endonuclease activity. *J. Biochem.*, 151, 2012, 317-327.
  85. Ishino Y and Ishino S, Rapid progress of DNA replication studies in Archaea, the third domain of life. *Sci. China, Ser-C Life Sci.*, 55, 2012, 386-403.
  86. Samad, M. A., Komatsu T., Okuwaki M., Nagata, K. B23/Nucleophosmin is involved in regulation of adenovirus chromatin

- structure at late infection stages, but not in virus replication and transcription. *J. Gen. Virol.*, 93, 2012, 1328-38
87. J. Higo, J. Ikebe, N. Kamiya, H. Nakamura. Enhanced and effective conformational sampling of protein molecular systems for their free energy landscapes. *Biophysical Rev.*, 4, 2012, 27–44.
  88. K. Umezawa, J. Ikebe, M. Takano, H. Nakamura, J. Higo. Conformational ensembles of an intrinsically disordered protein pKID with and without a KIX Domain in explicit solvent investigated by all-atom multicanonical molecular dynamics. *Biomolecules*, 2, 2012, 104–121.
  89. J. Higo, H. Nakamura. Virtual states introduced for overcoming entropic barriers in conformational space. *Biophysics*, 8, 2012, 139–144.
  90. K. Umezawa, J. Ikebe, M. Takano, H. Nakamura, and J. Higo, "Conformational ensembles of an intrinsically disordered protein pKID with and without a KIX domain in explicit solvent investigated by all-atom multicanonical molecular dynamics", *Biomolecules*, 2, 2012, 104-121.
  91. K. Okazaki, T. Sato, and M. Takano, "Temperature-enhanced association of proteins due to electrostatic interaction: A coarse-grained simulation of actin-myosin binding", *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 2012, 8918-8925.
  92. S. Sutheworapong, M. Ota, H. Ohta & K. Kinoshita, A novel biclustering approach with iterative optimization to analyze gene expression data., *Adv Appl Bioinform Chem.*, 5, 2012, 23-59
  93. Y. Matsunaga, R. Koike, M. Ota, J. R. H. Tame & A. Kidera, Influence of structural symmetry on protein dynamics, *PLoS One.*, 7, 2012, e50011
  94. S. Fukuchi, Sakamoto, Y. Nobe, S. D. Murakami, T. Amemiya, K. Hosoda, R. Koike, H. Hiroaki & M. Ota, IDEAL: intrinsically disordered proteins with extensive annotations and literature, *Nucleic Acids Res.*, 4, 2012, D507-D511
  95. R. Koike & M. Ota, SCPC: A method to structurally compare protein complexes, *Bioinformatics*, 28, 2012, 324-330
  96. T. Amemiya, R. Koike, A. Kidera & M. Ota, PSCDB: a database for protein structural change upon ligand binding, *Nucleic Acids Res.*, 40, 2012, D554-D558
  97. M. Ito, Y. Tohsato, H. Sugisawa, S. Kohara, S. Fukuchi, I. Nishikawa & K. Nishikawa, Intrinsically disordered proteins in human mitochondria, *Genes Cells.*, 17, 2012, 817-825
  98. Fukuchi S, Hosoda K, Homma K, Gojobori T, Nishikawa K., Binary classification of protein molecules into intrinsically disordered and ordered segments, *BMC Structural Biology.*, 11, 2011, 29
  99. N. Iwaya, K. Akiyama, N. Goda, T. Tenno, Y. Fujiwara, D. Hamada, T. Ikura, M. Shirakawa & H. Hiroaki, Effect of Ca<sup>2+</sup> on microtubule severing enzyme katanin p60; insight into the substrate dependent activation mechanism, *FEBS J.*, 279, 2012, 1339-1352
  100. N. Horikoshi, H. Tachiwana, K. Saito, A. Osakabe, M. Sato, M. Yamada, S. Akashi, Y. Nishimura, W. Kagawa and H. Kurumizaka, Structural and biochemical analyses of the human PAD4 variant encoded by a functional haplotype gene, *Acta Cryst.*, D67, 2011, 112-118
  101. T. Oroguchi, M. Ikeguchi, and M. Sato, Towards the Structural Characterization of Intrinsically Disordered Proteins by SAXS and MD Simulation, *J. Physics: Conference Series* 272, 2011, 012005
  102. A. Kawai, H. Hashimoto, S. Higuchi, M. Tsunoda c, M. Sato, K. T. Nakamura, S. Miyamoto, A novel heterotetrameric structure of the crenarchaeal PCNA2-PCNA3 complex, *J. Struct. Biol.*, 174, 2011, 443-450
  103. M. Iwamoto, A. Hishiki, T. Shimada, T. Imasaki, J. Tsuda, K. Kita, T. Shimizu, M. Sato, H. Hashimoto, Crystallization and X-ray diffraction studies of DNA-free and DNA-bound forms of EcoO109I DNA methyltransferase, *Acta Cryst.*, F66, 2011, 1528-1530
  104. T. Yoshizawa, H. Hashimoto, T. Shimizu, M. Yamabe, N. Shichijo, K. Hanada, H. Hirano, M. Sato, Crystallization of Bg7S, Purification, crystallization and X-ray diffraction study of basic 7S globulin from soybean, *Acta Cryst.*, F67, 2011, 87-89
  105. T. Yoshizawa, T. Shimizu, H. Hirano, M. Sato, H. Hashimoto, Purification, crystallization and X-ray diffraction study of extracellular dermal glycoprotein from carrot and the inhibition complex it forms with an endo-beta-glucanase from *Aspergillus aculeatus*, *Acta Cryst.*, F67, 2011, 830-832
  106. T. Yoshizawa, T. Shimizu, M. Yamabe, M. Taichi, Y. Nishiuchi, N. Shichijo, S. Unzai, H. Hirano, M. Sato and H. Hashimoto, Crystal structure of basic 7S globulin, a xyloglucan-specific endo-β-1,4-glucanase inhibitor protein-like protein from soybean lacking inhibitory activity against endo-β-glucanase, *FEBS.*, J. 278, 2011, 1944-1954
  107. H. Tachiwana, W. Kagawa, T. Shiga, A. Osakabe, Y. Miya, K. Saito, Y. Hayashi-Takanaka, T. Oda, M. Sato, S.-Y. Park, H. Kimura, and H. Kurumizaka, Crystal structure of the human centromeric nucleosome containing CENP-A, *Nature*, 476, 2011, 232-235
  108. H. Hashimoto, T. Takeuchi, K. Komatsu, K. Miyazaki, M. Sato, and S. Higashi, Structural basis for matrix metalloproteinase-2 (MMP-2)-selective inhibitory action of β-amyloid precursor protein-derived inhibitor, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 33236-33243
  109. C. P. Causey, J. E. Jones, J. L. Slack, D. Kamei, L. E. Jones, Jr., V. Subramanian, B. Knuckley, P. Ebrahimi, A. A. Chumanevich, Y. Luo, H. Hashimoto, M. Sato, L. J. Hofseth, and P. R. Thompson, The Development of N-α-(2-Carboxyl)benzoyl-N5-(2-fluoro-1-iminoethyl)-L-ornithine Amide (o-F-amidine) and N-α-(2-Carboxyl)benzoyl-N5-(2-chloro-1-iminoethyl)-L-ornithine Amide (o-Cl-amidine) As Second Generation Protein Arginine Deiminase (PAD) Inhibitors, *J. Med. Chem.*, 54, 2011, 6919-6935
  110. Y. Kokabu, Y. Murayama, N. Kuwabara, T. Oroguchi, H. Hashimoto, Y. Tsutsui, N. Nozaki, S. Akashi, S. Unzai, T. Shimizu, H. Iwasaki, M. Sato, and M. Ikeguchi, Fission Yeast Swi5-Sfr1 Protein Complex, an Activator of Rad51 Recombinase, Forms an Extremely Elongated Dogleg-shaped Structure, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 43569-43576
  111. K. Igarashi, T. Uchihashi, A. Koivula, M. Wada, S. Kimura, T. Okamoto, M. Penttilä, T. Ando, and M. Samejima, Traffic Jams Reduce Hydrolytic Efficiency of Cellulase on Cellulose Surface, *Science*, 333, 2011, 1279–1282
  112. A. Laisne, M. Ewald, T. Ando, E. Lesniewska, and D. Pompon, Self-assembly Properties and Dynamic of Synthetic Proteo-nucleic Building Blocks in Solution and on Surfaces, *Bioconjugate Chem.*, 22, 2011, 1824–1834
  113. A. Miyagi, T. Ando and Y. L. Lyubchenko, Dynamics of Nucleosomes Assessed with Time-lapse High Speed Atomic Force Microscopy, *Biochemistry*, 50, 2011, 7901–7908
  114. T. Uchihashi, R. Iino, T. Ando, and H. Noji, High-speed Atomic Force Microscopy Reveals Rotary Catalysis of Rotorless F1-ATPase, *Science*, 333, 2011, 755–758
  115. M. Shibata, T. Uchihashi, H. Yamashita, H. Kandori, and T. Ando, Structural Changes in Bacteriorhodopsin in Response to

- Alternate Illumination Observed by High-speed Atomic Force Microscopy, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50, 2011, 4410–4413
116. Y. L. Lyubchenko, L. S. Shlyakhtenko, and T. Ando, Imaging of Nucleic Acids with Atomic Force Microscopy, *Methods*, 54, 2011, 274–283
  117. S. Inoue, T. Uchihashi, D. Yamamoto, and T. Ando, Direct Observation of Surfactant Aggregate Behavior on a Mica Surface Using High-speed Atomic force Microscopy, *Chem. Commun.*, 47, 2011, 4974–4976
  118. K. M. Downard, Y. Kokabu, M. Ikeguchi, S. Akashi, Homology Modelled Structure of the  $\beta$ B2B3-Crystallin Heterodimer Studied by Ion Mobility and Radical Probe Mass Spectrometry. *FEBS J.*, 278, 2011, 4044-4054.
  119. Matsuki, Y., Konuma, T., Fujiwara, T., Sugase, K., Boosting protein dynamics studies using quantitative nonuniform sampling NMR spectroscopy. *J. Phys. Chem. B*, 115, 2011, 13740-13745.
  120. Sugase, K., Elucidating slow binding kinetics of a protein without observable bound resonances by longitudinal relaxation NMR spectroscopy. *J. Biomol. NMR*, 50, 2011, 219-227.
  121. Arai, N., Kagawa, W., Saito, K., Shingu, Y., Mikawa, T., Kurumizaka, H. and Shibata, T., Vital roles of the second DNA-binding site of Rad52 protein in yeast homologous recombination, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011 17607-17617
  122. Inoue, J., Nagae, T., Mishima, M., Ito, Y., Shibata, T. and Mikawa, T., A mechanism for single-stranded DNA-binding protein (SSB) displacement from single-stranded DNA upon SSB-RecO interaction, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 6720-6732
  123. Ling, F., Mikawa, T. and Shibata, T., Enlightenment of yeast mitochondrial homoplasmy: diversified roles of gene conversion, *Genes (Basel)*, 2, 2011, 169-190, DOI 10.3390/genes2010169
  124. Ishino S, Fujino S, Tomita H, Ogino H, Takao K, Daiyasu H, Kanai T, Atomi H, Ishino Y. Biochemical and genetical analyses of the three mcm genes from the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakarensis*. *Genes Cells*, 16, 2011, 1176-1189.
  125. Ogino H, Ishino S, Mayanagi K, Haugland GH, Birkeland N-K, Yamagishi A, Ishino Y. The GINS complex from the thermoacidophilic archaeon, *Thermoplasma acidophilum* may function as a homotetramer in DNA replication. *Extremophiles*, 15, 2011, 529-539.
  126. Oyama T, Ishino S, Fujino S, Ogino H, Shirai T, Mayanagi K, Saito M, Nagasawa N, Ishino Y. Morikawa K. Architectures of archaeal GINS complexes, essential DNA replication initiation factors. *BMC Biol.* 9, 2011, 28.
  127. Kato K., Okuwaki M., Nagata K. Involvement of Template Activating Factor-I as a chaperone in linker histone dynamics. *J. Cell Sci.*, 124, 2011, 3254-65
  128. J. Ikebe, K. Umezawa, N. Kamiya, T. Sugihara, Y. Yonezawa, Y. Takano, H. Nakamura, J.Higo. Theory for trivial trajectory parallelization of multicannonical molecular dynamics and application to a polypeptide in water. *J. Comput. Chem.*, 32, 2011, 1286–1297.
  129. J. Ikebe, D. M. Standley, H. Nakamura, J.Higo. Ab initio simulation of a 57-residue protein in explicit solvent reproduces the native conformation in the lowest free-energy cluster. *Protein Science*, 20, 2011, 187–196.
  130. J.Higo, Y. Nishimura, H. Nakamura. A Free-energy landscape for coupled folding and binding of an intrinsically disordered protein in explicit solvent from detailed all-atom computations. *J. Am. Chem. Soc.*, 133, 2011, 10448–10458.
  131. H. Nishi, R. Koike & M. Ota, Cover and spacer insertions: small non-hydrophobic accessories that assist protein oligomerization, *Proteins*, 79, 2011, 2372-2379
  132. S. Takeda, R. Koike, Y. Nitani, S. Minakata, Y. Maeda & M. Ota, Actin capping protein and its inhibitor CARMIL: how intrinsically disordered regions function, *Phys. Biol.*, 8, 2011, 035005
  133. K. Homma, S. Fukuchi, K. Nishikawa, S. Sakamoto & H. Sugawara, Intrinsically disordered regions have specific functions in mitochondrial and nuclear proteins, *Mol. Biosyst.*, 8, 2011, 247-255
  134. K. Nonomura, M. Eiguchi, M. Nakano, K. Takashima, N. Komeda, S. S. Fukuchi, Miyazaki, A. Miyao, H. Hirochika & N. Kurata, A novel RNA-recognition-motif protein is required for premeiotic G1/S-phase transition in Rice, *PLoS Genet.*, 7, 2011, e1001265
  135. H. Hiroaki, Y. Umetsu, Y. Nabeshima, M. Hoshi & D. Kohda, A Simplified Recipe for Assigning Amide NMR Signals Using Combinatorial 14N Amino Acid Inverse-Labeling, *J Structural Functional Genomics.*, 12, 2011, 167-174
  136. Y. Fujiwara, K. Fujiwara, N. Goda, N. Iwaya, T. Tenno, M. Shirakawa & H. Hiroaki, Structure and function of the N-terminal nucleolin binding domain of nuclear Valocin containing protein like 2 (NVL2) harboring a nucleolar localization signal, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 21732-21741
  137. T. Oda, H. Hashimoto, N. Kuwabara, S. Akashi, K. Hayashi, C. Kojima, T. Kawasaki, K. Shimamoto, M. Sato and T. Shimizu, Structure of the N-terminal regulatory domain of a plant NADPH oxidase and its functional implications, *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 1435-1445
  138. K. Hara, H. Hashimoto, Y. Murakumo, S. Kobayashi, T. Kogame, S. Unzai, S. Akashi, S. Takeda, T. Shimizu and M. Sato, Crystal structure of human REV7 in complex with human REV3 fragment and structural implication of the interaction between DNA polymerase  $\alpha$  and REV1, *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 12299-12307
  139. I. Yanagihara, K. Nakahira, T. Yamane, S. Kaieda, K. Mayanagi, D. Hamada, T. Fukui, K. Ohnishi, S. Kajiyama, T. Shimizu, M. Sato, T. Ikegami, M. Ikeguchi, T. Honda and H. Hashimoto, Structure and Functional Characterization of *Vibrio parahaemolyticus* Thermolabile Direct Hemolysin, *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 16267-16274
  140. S. Shimoyama, A. Nagadoi, H. Tachiwana, M. Yamada, M. Sato, H. Kurumizaka, Y. Nishimura and S. Akashi, Deimination stabilizes histone H2A/H2B dimers as revealed by electrospray ionization mass spectrometry. *J. Mass. Spectrom.*, 45, 2010, 900-908
  141. H. Hashimoto, K. Hara, A. Hishiki, S. Kawaguchi, N. Shichijo, K. Nakamura, S. Unzai, Y. Tamaru, T. Shimizu, and M. Sato, Crystal structure of zinc-finger domain of Nanos and its functional implications. *EMBO Rep.*, 11, 2010, 848-853.
  142. N. Kuwabara, H. Hashimoto, N. Yamada, S. Unzai, M. Ikeguchi, M. Sato, Y. Murayama, H. Iwasaki and T. Shimizu, Expression, purification and crystallization of Swi5 and the Swi5-Sfr1 complex from fission yeast, *Acta Cryst.*, F66, 2010, 1124-1126
  143. M. Iwamoto, A. Hishiki, T. Shimada, T. Imasaki, J. Tsuda, K. Kita, T. Shimizu, M. Sato and H. Hashimoto, Crystallization and X-ray diffraction studies of DNA-free and DNA-bound forms of EcoO109I DNA methyltransferase, *Acta Cryst.*, F66, 2010, 1528-1530
  144. N. Kodera, D. Yamamoto, R. Ishikawa, and T. Ando, Video Imaging of Walking Myosin V by High-speed Atomic Force Microscopy, *Nature*, 468, 2010, 72–76

145. P. -E. Milhiet, D. Yamamoto, O. Berthoumieu, P. Dosset, Ch. Le Grimmellec, J.-M. Verdier, S. Marchal, and T. Ando, Deciphering the Structure, Growth and Assembly of Amyloid-like Fibrils Using High-speed Atomic Force Microscopy, *PLoS One*, 5, 2010, e13240
146. D. Yamamoto, T. Uchihashi, N. Kodera, H. Yamashita, S. Nishikori, T. Ogura, M. Shibata, and T. Ando, High-speed Atomic Force Microscopy Techniques for Observing Dynamic Biomolecular Processes, *Methods Enzymol.*, 475, 2010, 541–564
147. D. Yamamoto, A. Taoka, T. Uchihashi, H. Sasaki, H. Watanabe, T. Ando, and Y. Fukumori, Visualization and Structural Analysis of the Bacterial Magnetic Organelle Magnetosome Using Atomic Force Microscopy, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 2010, 9382–9387
148. S. Sugimoto, K. Yamanaka, S. Nishikori, A. Miyagi, T. Ando, and T. Ogura, AAA+ Chaperone ClpX Regulates Dynamics of Prokaryotic Cytoskeletal Protein FtsZ, *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 6648–6657
149. M.-C. Giocondi, D. Yamamoto, E. Lesniewska, P.-E. Milhiet, T. Ando, and C. Le Grimmellec, Surface Topography of Membrane Domains, *Biochim. Biophys. Acta. Biomembranes*, 1798, 2010, 703–718
150. M. Shibata, H. Yamashita, T. Uchihashi, H. Kandori, and T. Ando, High-speed Atomic Force Microscopy Shows Dynamic Molecular Processes in Photo-activated Bacteriorhodopsin, *Nat. Nanotechnol.*, 5, 2010, 208–212
151. M. Takahashi, M. Mizuguchi, H. Shinoda, T. Aizawa, M. Demura, H. Okazawa, and K. Kawano, Polyglutamine tract-binding protein-1 binds to U5-15kD via a continuous 23-residue segment of the C-terminal domain, *Biochim. Biophys. Acta.* 1804, 2010, 1500-1507
152. T. Yamane, H. Okamura, Y. Nishimura, A. Kidera, M. Ikeguchi, Side-chain conformational changes of transcription factor PhoB upon DNA binding: a population-shift mechanism. *J. Am. Chem. Soc.*, 132, 2010, 12653-12659.
153. Shingu, Y., Mikawa, T., Onuma, M., Hirayama, T. and Shibata, T., A DNA-binding surface of SPO11-1, an Arabidopsis SPO11 orthologue required for normal meiosis, *FEBS J.*, 277, 2010, 2360-2374
154. Masuda, T., Ling, F., Shibata, T. and Mikawa, T., Analysis of DNA-binding sites on Mhr1, a yeast mitochondrial ATP-independent homologous pairing protein, *FEBS J.*, 277, 2010, 1440-1452
155. Yamana, Y., Sonezaki, S., Ogawa, H. I. and Kusano, K., Mismatch-induced lethality due to defect in Escherichia coli RecQ helicase in exonuclease-deficient background: Dependence on MutS and UvrD functions, *Plasmid*, 63, 2010, 119-127.
156. Mayanagi, K., Kiyonari, S., Nishida, H., Saito, M., Kohda, D., Ishino, Y., Shirai, T., and Morikawa, K., Architecture of the DNA polymerase B-proliferating cell nuclear antigen (PCNA)-DNA ternary complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 108, 2010, 1845-1849.
157. Fujikane R., Ishino S, Ishino Y. Forterre P., Genetic analysis of DNA repair in the hyperthermophilic archaeon, *Thermococcus kodakaraensis*. *Genes Genet. Syst.*, 85, 2010, 243-257.
158. Akita, M., Adachi, A, Takemura, K., Yamagami, T., Matsunaga, F., and Ishino, Y., Cdc6/Orc1 from *Pyrococcus furiosus* may act as the origin recognition protein and Mcm helicase recruiter. *Genes Cells*, 15, 2010, 537-552.
159. Lin, L.-J., Yoshinaga, A., Lin, Y., Guzman, C., Chen, Y.-H., Mei, S., Lagunas, A. M., Koike, S., Iwai, S., Spies, M. A., Nair, S. K., Mackie, R. I., Ishino, Y., and Cann, I. K. O., Molecular analyses of an unusual translesion DNA polymerase from *Methanosarcina acetivorans* C2A. *J. Mol. Biol.*, 397, 2010, 13-30.
160. Tori, K., Dassa, B., Johnson, M. A., Southworth, M. W., Brace, L. E., Ishino, Y., Pietrokovski, S., and Perler, F. B., Splicing of the Mycobacteriophage Bethlehem DnaB intein: identification of a new mechanistic class of inteins that contain an obligate Block F nucleophile. *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 2515-2526.
161. Hisaoka M., Ueshima S., Murano K., Nagata K., \*Okuwaki M. Regulation of nucleolar chromatin by B23/nucleophosmin jointly depends upon its RNA binding activity and transcription factor UBF. *Mol. Cell Biol.*, 30(20), 2010, 4952-64
162. Okuwaki M., Kato K., and Nagata K. Functional characterization of human Nucleosome Assembly Protein 1-like proteins in human cells. *Genes Cells*, 15(1), 2010, 13-27
163. K. Miki, M. Shimizu, M. Fujii, S. Takayama, M. N. Hossain, and D. Ayusawa, 5-Bromodeoxyuridine Induces Transcription of Repressed Genes with Disruption of Nucleosome Positioning, *FEBS Journal*, 277, 2010, 4539-4548
164. J. Tanase, N. Morohashi, M. Fujita, J. Nishikawa, M. Shimizu, and T. Ohyama, Highly Efficient Chromatin Transcription Induced by Superhelicallly Curved DNA Segments: The Underlying Mechanism Revealed by a Yeast System, *Biochemistry*, 49, 2010, 2351-2358
165. K. Umezawa, R. Morikawa, H. Nakamura, J. Higo. Solvent flow patterns fluctuating largely around a protein and correlation with solvent density fluctuations: a molecular dynamics study. *J. Chem. Phys.*, 132, 2010, 155103.
166. M. Takano, T. P. Terada, and M. Sasai, Unidirectional Brownian motion observed in an in silico single molecule experiment of an actomyosin motor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 2010, 7769-7774.
167. Y. Matsuura, M. Ota, T. Tanaka, M. Takehira, K. Ogasahara, B. Bagautdinov, N. Kunishima & K. Yutani, Remarkable improvement in the heat stability of CutA1 from *Escherichia coli* by rational protein design, *J. Biochem.*, 148, 2010, 449-458
168. S. Takeda, S. Minakata, R. Koike, I. Kawahata, A. Narita, M. Kitazawa, M. Ota, T. Yamakuni, Y. Maéda & Y. Nitani, Two distinct mechanisms for actin capping protein regulation? steric and allosteric inhibition, *PLoS Biol.*, 8, 2010, e1000416
169. H. Nishi & M. Ota, Amino acid substitutions at protein-protein interfaces that modulate the oligomeric state, *Proteins*, 78, 2010, 1563-1574
170. I. Nishikawa, Y. Nakajima, M. Ito, S. Fukuchi, K. Homma & K. Nishikawa, Computational prediction of O-linked glycosylation sites that preferentially map on intrinsically disordered regions of extracellular proteins, *Int. J. Mol. Sci.*, 11, 2010, 4991-5008
171. R. Nishimasu, H. Komori, Y. Higuchi, H. Nishimasu & H. Hiroaki, Crystal structure of a PFU-PUL domain pair of *Saccharomyces cerevisiae* Doa1/Ufd3, *Kobe J Med Sci*, 56, 2010, E125-E139
172. H. Hashimoto, S. Kawaguchi, K. Hara, K. Nakamura, T. Shimizu, Y. Tamaru and M. Sato, Purification, crystallization and initial X-ray diffraction study of the zinc-finger domain of zebrafish Nanos, *Acta Cryst.*, F65, 2009, 959-961
173. K. Hara, T. Shimizu, S. Unzai, S. Akashi, M. Sato and H. Hashimoto, Purification, crystallization and initial X-ray diffraction study of human REV7 in complex with REV3 fragment, *Acta Cryst.*, F65, 2009, 1302-1305
174. I. Casuso, N. Kodera, C. Le Grimmellec, T. Ando, and S. Scheuring, Contact Mode High-resolution High-speed Atomic Force Microscopy Movies of Purple Membrane, *Biophys. J.*, 97, 2009, 1354–1361



175. D. Yamamoto, N. Nagura, S. Omote, M. Taniguchi, and T. Ando, Streptavidin 2D Crystal Substrates for Visualizing Biomolecular Processes by Atomic Force Microscopy, *Biophys. J.*, 97, 2009, 2358–2367
176. H. Yamashita, K. Voitchovsky, T. Uchihashi, S. Antoranz Contera, J. F. Ryan, and T. Ando, Dynamics of Bacteriorhodopsin 2D Crystal Observed by High-speed Atomic Force Microscopy, *J. Struct. Biol.*, 167, 2009, 153–158
177. I. Shinohara, N. Kodera, and T. Ando, Single-molecule Imaging of a Micro-Brownian Motion of a Chiral Helical  $\pi$ -Conjugated Polymer as a Molecular Spring Driven by Thermal Fluctuations, *Chem. Lett.*, 38, 2009, 690–691
178. F. F. Miranda, K. Iwasaki, S. Akashi, K. Sumitomo, M. Kobayashi, I. Yamashita, J. R. Tame, J. G. Heddle, A Self-Assembled Protein Nanotube with High Aspect Ratio, *Small*, 5, 2009, 2077–2084.
179. T. Kouno, M. Mizuguchi, T. Aizawa, H. Shinoda, M. Demura, S. Kawabata, and K. Kawano, A novel beta-defensin structure: big defensin changes its N-terminal structure to associate with the target membrane, *Biochemistry*, 48, 2009, 7629–7635
180. M. Takahashi, M. Mizuguchi, H. Shinoda, T. Aizawa, M. Demura, H. Okazawa, and K. Kawano, Polyglutamine tract binding protein-1 is an intrinsically unstructured protein, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1794, 2009, 936–943
181. Masuda, T., Ito, Y., Terada, T., Shibata, T. and Mikawa, T., A non-canonical DNA structure enables homologous recombination in various genetic systems, *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 30230–30239
182. Ishida, T., Takizawa, Y., Kainuma, T., Inoue, J., Mikawa, T., Shibata, T., Suzuki, H., Tashiro, S. and Kurumizaka, H., DIDS, a chemical compound that inhibits RAD51-mediated homologous pairing and strand exchange, *Nucleic Acids Res.*, 37, 2009, 3367–3376
183. Ling, F., Yoshida, M. and Shibata, T., Heteroduplex joint formation free of net topological change by Mhr1, a mitochondrial recombinase, *J. Biol. Chem.*, 284, 2009, 9341–9353
184. Nishida, H., Mayanagi, K., Kiyonari, S., Sato, Y., Oyama, T., Ishino, Y. and Morikawa, K., Structural determinant for switching between the polymerase and exonuclease modes in the PCNA-replicative DNA polymerase complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 2009, 20693–20698.
185. Matsunaga, F., Takemura, K., Akita, M., Adachi, A., Yamagami, T., and Ishino, Y. Localized melting of duplex DNA by Cdc6/Orc1 at the DNA replication origin in the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*, *Extremophiles*, 14, 2009, 21–31.
186. Mayanagi, K., Kiyonari, S., Saito, M., Shirai, T., Ishino, Y. and Morikawa, K., Mechanism of replication machinery assembly as revealed by the DNA ligase-PCNA-DNA complex architecture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 106, 2009, 4647–4652.
187. Kiyonari S, Tahara S, Shirai T, Iwai S, Ishino S, Ishino Y. Biochemical properties and base excision repair complex formation of apurinic/apyrimidinic endonuclease from *Pyrococcus furiosus*. *Nucleic Acids Res.*, 37, 2009, 6439–6453.
188. K. Umezawa, J. Ikebe, M. Nomizu, H. Nakamura, J. Higo. Conformational requirement on peptides to exert laminin's activities and search for protein segments with laminin's activities. *Biopolymers: Peptide Science*, 92, 2009, 124–131.
189. J. Higo, N. Kamiya, T. Sugihara, Y. Yonezawa, H. Nakamura. Verifying trivial parallelization of multicannonical molecular dynamics for conformational sampling of a polypeptide in explicit water. *Chem. Phys. Lett.*, 473, 2009, 326–329.
190. T. Sugihara, J. Higo, H. Nakamura. Parallelization of Markov chain generation and its application to the multicannonical method. *J. Phys. Soc. Jpn.*, 78, 2009, 074003.
191. J. Ito, Y. Sonobe, K. Ikeda, K. Tomii, J. Higo. Universal partitioning of the hierarchical fold network of 50-residue segments in proteins. *BMC Struct. Biol.*, 9, 2009, 34.
192. D. Mitomo, Y. Fukunishi, J. Higo, H. Nakamura. Calculation of protein-ligand binding free energy using smooth reaction path generation (SRPG) method; A comparison of the explicit water model, GB/SA model and docking score function. *Genome Informatics*, 23, 2009, 85–97.
193. H. Morita and M. Takano, Residue network in protein native structure belongs to the universality class of a three-dimensional critical percolation cluster, *Physical Review E*, 79, 2009, 020901(R).
194. S. Fukuchi, K. Homma, Y. Minezaki, T. Gojobori & K. Nishikawa, Development of an Accurate Classification system of Proteins into Structured and Unstructured Regions that Uncovers Novel Structural Domains: Its Application to Human Transcription Factors, *BMC Struct. Biol.*, 9, 2009, 26
195. S. Fukuchi, K. Homma, S. Sakamoto, H. Sugawara, Y. Tateno, T. Gojobori & K. Nishikawa, The GTOP database in 2009: updated content and novel features to expand and deepen insights into protein structures and functions, *Nucleic Acids Res.*, 37, 2009, D333–337
196. H. Sugawara, K. Ieko, S. Fukuchi, T. Gojobori & Y. Tateno, DDBJ dealing with mass data produced by the second generation sequencer, *Nucleic Acids Res.*, 37, 2009, D333–337
197. Y. Kuwahara, S. Unzai, T. Nagata, Y. Hiroaki, H. Yokoyama, I. Matsui, T. Ikegami, Y. Fujiyoshi & H. Hiroaki, Unusual thermal disassembly of the SPFH domain oligomer from *Pyrococcus horikoshii*, *Biophys. J.*, 97, 2009, 2034–2043
198. H. Ohnishi, H. Tochio, Z. Kato, K. E. Orii, A. Li, T. Kimura, H. Hiroaki, N. Kondo & M. Shirakawa, Structural basis for the multiple interactions of the MyD88 TIR domain in TLR4 signaling, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 106, 2009, 10260–10265
199. K. Inomata, A. Ohno, H. Tochio, S. Isogai, T. Tenno, I. Nakase, T. Takeuchi, S. Futaki, Y. Ito, H. Hiroaki & M. Shirakawa, High-resolution multi-dimensional NMR spectroscopy of proteins in human cells, *Nature*, 458, 2009, 106–109

#### 公募研究

1. S. Ishino, Y. Kawata, T. Ikegami, K. Matsuzaki, and M. Hoshino, Evaluation of the stability of an SR398/GroES chaperonin complex. *J. Biochemistry*, 155, 2014, 295–300.
2. Sugiyama, M., Arimura, Y., Shirayama, K., Fujita, R., Oba, Y., Sato, N., Inoue, R., Oda, T., Sato, M., Heenan, R. K., Kurumizak, H., Distinct Features of the Histone Core Structure in Nucleosomes Containing the Histone H2A.B Variant, *Biophysical J.*, 106, 2014, 2206–2213.
3. Sugiyama, M., Yagi, H., Yamaguchi, T., Kumoi, K., Hirai, M., Oba, Y., Sato, N., Porcar, L., Martel, A. and Kato, K., Conformational characterization of a protein complex involving intrinsically disordered protein by small-angle neutron scattering using the inverse contrast matching method: a case study of interaction between  $\alpha$ -synuclein and PbaB tetramer as a model chaperone. *Journal of Applied Crystallography*, 47, 2014, 430–435.
4. Hayashi, T., Oshima, H., Mashima, T. Nagata, T., Katahira, M. and Kinoshita, M. Binding of an RNA aptamer and a partial peptide

- of a prion protein: Crucial importance of water entropy in molecular recognition. *Nucleic Acids Res.* in press, 2014.
5. Furukawa, A., Sugase, K., Morishita, R., Nagata, T., Kodaki, T., Takaori-Kondo, A., Ryo, A. and Katahira, M. Quantitative Analysis of Location- and Sequence-Dependent Deamination by APOBEC3G Using Real-Time NMR Spectroscopy. *Angew Chem Int Ed Engl.*, 53, 2349-2352, 2014.
  6. R. Maeda, M. Hiroshima, A. Wada, S. Nishimura, Y. Sako, Y. Shichida, and Y. Imamoto, Single-molecule observation of the ligand-induced population shift of rhodopsin, a G-protein coupled receptor, *Biophys. J.*, 106, 2014, 915-924
  7. C.-G. Pack, H. Yukii, A. Toh-e, T. Kudo, H. Tsuchiya, A. Kaiho, E. Sakata, S. Murata, Y. Yokosawa, Y. Sako, W. Boumeister, K. Tanaka, and Y. Saeki, Y. Quantitative live-cell imaging reveals spatio-temporal and cytoplasmic assembly of the 26S proteasome, *Nat. Commun.*, 5, 2014
  8. Y. Nakabayashi, S. Kawashima, L. Sato, T. Enomoto, M. Seki and M. Horikoshi, Roles of common subunits within distinct multisubunit complexes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 111, 2014, 699-704
  9. Berkuyrek AC, Suetake I, Arita K., Takeshita K, Nakagawa A, Shirakawa M, Tajima S., The DNA Methyltransferase Dnmt1 Directly Interacts with the SET and RING Finger Associated (SRA) Domain of the Multifunctional Protein Uhrf1 to Facilitate Accession of the Catalytic Center to Hemi-methylated DNA. *JBC*, 289, 2014, 379-86
  10. Hiraoka Y., Matsuoka T, Ohno M, Nakamura K, Saijo S, Matsumura S, Nishi K, Sakamoto J, Chen PM, Inoue K, Fushiki T, Kita T, Kimura T and Nishi E. Critical roles of nardilysin in the maintenance of body temperature homeostasis. *Nat. Commun.* 2014, 5, 3224.
  11. Ohno M, Hiraoka Y., Lichtenthaler SF, Nishi K, Saijo S, Matsuoka T, Tomimoto H, Araki W, Takahashi R, Kita T, Kimura T and Nishi E, Nardilysin prevents amyloid plaque formation by enhancing  $\alpha$ -secretase activity in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol. Aging.*, 2014, 35, 213-222.
  12. E. Tokuda, T. Itoh, J. Hasegawa, T. Ijuin, Y. Takeuchi, Y. Irino, M. Fukumoto and T. Takenawa, Phosphatidylinositol 4-Phosphate in the Golgi Apparatus Regulates Cell-Cell Adhesion and Invasive Cell Migration in Human Breast Cancer, *Cancer Res.*, 2014,
  13. C. Li, A. Kita, Y. Hashimoto, M. Ihara, A. Kato, N. Ogura, A. Doi, M. Oku, T. Itoh, Y. Sakai and R. Sugiura, Functional link between Rab GTPase-mediated membrane trafficking and PI4,5P2 signaling, *Genes Cells*, 19, 2014, 177-197
  14. F. Koyano, K. Okatsu, H. Kosako, Y. Tamura, E. Go, M. Kimura, Y. Kimura, H. Tsuchiya, H. Yoshihara, T. Hirokawa, T. Endo, E. A. Fon, J.-F. Trempe, Y. Saeki, K. Tanaka, and N. Matsuda, Ubiquitin is phosphorylated by PINK1 to activate Parkin, *Nature*, 2014, doi:10.1038/nature13392.
  15. Y. Fujioka, S. W.Suzuki, H.Yamamoto, C.Kondo-Kakuta, Y.Kimura, H.Hirano, R.Akada, F.Inagaki,Y.Ohsumi and N. Noda, Structural basis of starvation-induced assembly of the autophagy initiation complex, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, in press.
  16. Onodera O. Ishihara T, Shiga A, Ariizumi Y, Yokoseki A, Nishizawa M. Minor splicing pathway is not minor any more, implications for the pathogenesis of motor neuron diseases. *Neuropathology*. 2014, 34, 99-107.
  17. D. Fox 3rd, Z. Yan, C. Ling, Y. Zhao, D.-Y. Lee, T. Fukagawa, W. Yang, and W.Wang, The histone-fold complex MHF is remodeled by FANCM to recognize branched DNA and protect genome stability, *Cell Res.*, 24, 2014, 560-575
  18. K. Ishiguro, J. Kim, H. Shibuya, A. Hernández-Hernández, A. Suzuki, T. Fukagawa, G. Shioi, H. Kiyonari, X. C. Li, J. Schimenti, C. Höög, and Y. Watanabe, Meiosis-specific cohesin mediates homolog recognition in mouse spermatocytes, *Genes. Dev.*, 28, 2014, 594-607
  19. N. Kagawa, T. Hori, Y. Hoki, O. Hosoya, K. Tsustui, Y. Saga, T. Sado, and T. Fukagawa, The CENP-O complex requirement varies among different cell types, *Chromosome Res.*, 2014, 印刷中
  20. K. Takeuchi, T. Nishino, K. Mayanagi, N. Horikoshi, A. Osakabe, H. Tachiwana, T. Hori, H. Kurumizaka, and T. Fukagawa, The centromeric nucleosome-like CENP-T-W-S-X complex induces positive supercoils into DNA, *Nucl. Acids Res.*, 42, 2014, 1644-1655
  21. Sharma A, Dehzangi A, Lyons J, Imoto S, Miyano S, Nakai K, Patil A. Evaluation of sequence features from intrinsically disordered regions for the estimation of protein function. *PLOS ONE*, 9, 2014, e89890.
  22. Oikawa, H., Suzuki, Y., Saito, M., Kamagata, K., Arai, M., Takahashi S., "Microsecond dynamics of an unfolded protein by a line confocal tracking of single molecule fluorescence", *Sci. Rep.*, 3, 2151, 2013
  23. T. Yamaguchi, K. Matsuzaki, and M. Hoshino, Interaction between soluble Ab-(1-40) monomer and Ab-(1-42) fibrils probed by paramagnetic relaxation enhancement. *FEBS Lett.*, 587, 2013, 620-624.
  24. Sugiyama, M., Sahashi, H., Kurimoto, E., Takata, S., Yagi, H., Kanai, K., Sakata, E., Minami, Y., Tanaka, K. and Kato, K., Spatial arrangement and functional role of  $\alpha$ -subunits of proteasome activator PA28 in hetero-oligomer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 432, 2013, 141-145.
  25. Mashima, T., Nishikawa, F., Kamatari, O. Y., Fujiwara, H., Saimura, M., Nagata, T., Kodaki, T., Nishikawa, S., Kuwata, K. and Katahira, M. Anti-prion activity of an RNA aptamer and its structural basis. *Nucleic Acids Res.*, 41, 1355-1362, 2013.
  26. T. Mizuta, K. Ando, T. Uemura, Y. Kawata, and T. Mizobata, Probing the Dynamic Process of Encapsulation in Escherichia coli GroEL, *PLoS ONE*, 8, 2013, e78135
  27. H. Iwasa, H. Kameda, N. Fukui, S. Yoshida, K. Hongo, T. Mizobata, S. Kobayashi, and Y. Kawata, Bilberry anthocyanins neutralize the cytotoxicity of co-chaperonin GroES fibrillation intermediates, *Biochemistry*, 52, 2013, 9202-9211
  28. T. Oroguchi, M. Nakasako, Three-dimensional structure determination protocol for noncrystalline biomolecules using x-ray free electron laser diffraction imaging, *Phys. Rev. E*, 87, 2013, 22712
  29. C. Arai, H. Kurahashi, C.-G. Pack, C.-G., Y. Sako, and Y. Nakamura, Clearance of yeast eRF-3 prion [PSI<sup>+</sup>] by amyloid enlargement due to the imbalance between chaperone Ssa1 and cochaperone Sgt2, *Translation*, 1, 2013, e26574
  30. T. Sultana, H. Takagi, M. Morimatsu, H. Teramoto, C. B. Li, Y. Sako, and T. Komatsuzaki, Non-Markovian properties and multiscale hidden Markovian network buried in single molecule time series, *J. Chem. Phys.*, 139, 2013, 245101
  31. Y. Hattori, K. Furuita, I. Ohki, T. Ikegami, H. Fukada, M. Shirakawa, T. Fujiwara and C. Kojima. Utilization of lysine <sup>13</sup>C-methylation NMR for protein-protein interaction studies, *J. Biomol. NMR*, 2013, 55, 19-31.
  32. K. Ikeda, A. Egawa, and T. Fujiwara. Secondary Structural Analysis of Proteins Based on <sup>13</sup>C Chemical Shift Assignments in Unresolved Solid-State NMR Spectra Enhanced by Fragmented Structure Database, *J. Biomol. NMR*, 2013, 55, 189-200.
  33. W. Doster, H. Nakagawa and M.-S. Appavou, Scaling analysis of bio-molecular dynamics derived from elastic incoherent neutron

- scattering experiments, *J.Chem.Phys.*, 139, 2013, 045105
34. H. Kadokura, M. Saito, A. Tsuru, A. Hosoda, T. Iwawaki, K. Inaba, K. Kohno, Identification of the redox partners of ERdj5 /JPDI, a PDI family member, from an animal tissue, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 440, 2013, 245-250
  35. Y. Kitai, H. Ariyama, N. Kono, D. Oikawa, T. Iwawaki, H. Arai, Membrane lipidsaturation activates IRE1 $\alpha$  without clustering, *Genes Cells*, 18, 2013, 798-809
  36. A. Tsuru, N. Fujimoto, S. Takahashi, M. Saito, D. Nakamura, M. Iwano, T. Iwawaki, H. Kadokura, D. Ron, K. Kohno, Negative feedback by IRE1 $\beta$  optimizes mucin production in goblet cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 2013, 2864-2869
  37. Chih-Kang Chiang, Masaomi Nangaku, Tetsuhiro Tanaka, Takao Iwawaki, Reiko Inagi, Endoplasmic reticulum (ER) stress signal impairs erythropoietin production: a role for ATF4, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 304, 2013, C342-C353
  38. M. Horikoshi, Histone acetylation: From code to web and router via intrinsically disordered regions, *Curr. Pharm. Design*, 19, 2013, 5019-5042
  39. S. Biswas, K. Kinbara, T. Niwa, H. Taguchi, N. Ishii, S. Watanabe, K. Miyata, K. Kataoka, and T. Aida, Biomolecular Robotics for Chemomechanically Driven Guest Delivery Fueled by Intracellular ATP, *Nature Chemistry*, 5, 2013, 613-620
  40. K. Yamakawa, T. Furuki, T. Furuta, R. Hatanaka, T. Kikawada, T. Niwa, H. Taguchi, H. Furusawa, Y. Okahata, and M. Sakurai, Experimental study on the mechanism underlying the anti-aggregation function of a group3LEA peptide, *Cryobiol. Cryotechnol.*, 59, 2013, 95-99
  41. S. Ohta, S. Kawai-Noma, A. Kitamura, C-G. Pack, M. Kinjo, and H. Taguchi, The interaction of Hsp104 with yeast prion Sup35 as analyzed by fluorescence cross-correlation spectroscopy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 442, 2013, 28-32
  42. Nishiyama A, Yamaguchi L, Sharif J, Johmura Y, Kawamura T, Nakanishi K, Shimamura S, Arita K, Kodama T, Ishikawa F, Koseki H, and Nakanishi M., Uhrfl-dependent ubiquitylation of histone H3 at lysine 23 couples maintenance DNA methylation and DNA replication., *Nature*, 502, 2013, 249-253
  43. Hori Y, Norinobu T, Sato M, Arita K, Shirakawa M, Kikuchi K., Development of Fluorogenic Probes for Quick No-Wash Live-Cell Imaging of Intracellular Proteins, *JACS.*, 135, 2013, 12360-12365
  44. Takaoka Y, Kioi Y, Morito A, Otani J, Arita K, Ashihara E, Ariyoshi M, Tochio H, Shirakawa M, Hamachi I. Quantitative comparison of protein dynamics in live cells and in vitro by in-cell (19)F-NMR., *Chem. Commun. (Camb)*, 49, 2013, 2801-2803.
  45. Otani J, Arita K, Kato T, Kinoshita M, Kimura H, Suetake I, Tajima S, Ariyoshi M, Shirakawa M., Structural basis of the versatile DNA recognition ability of the methyl CpG binding domain of methyl-CpG binding domain protein 4., *J. Biol. Chem.*, 288, 2013, 6351-6362.
  46. Unoki M, Masuda A, Dohmae N, Arita K, Yoshimatsu M, Iwai Y, Fukui Y, Ueda K, Hamamoto R, Shirakawa M, Sasaki H, Nakamura Y., Lysyl 5-Hydroxylation, a Novel Histone Modification, by Jumonji Domain Containing 6 (JMJD6)., *J. Biol. Chem.*, 288, 2013, 6053-6062.
  47. Y. Miyata, H. Nakamoto, and L. Neckers, The therapeutic target Hsp90 and cancer hallmarks, *Current Pharmaceutical Design*, 19, 2013, 347-365
  48. D. Yamazaki, T. Itoh, H. Miki and T. Takenawa, srGAP1 regulates lamellipodial dynamics and cell migratory behavior by modulating Rac1 activity, *Mol. Biol. Cell*, 24, 2013, 3393-3405
  49. K. Tsujita, A. Kondo, S. Kurisu, J. Hasegawa, T. Itoh and T. Takenawa, Antagonistic regulation of F-BAR protein assemblies controls actin polymerization during podosome formation, *J. Cell Sci.*, 126, 2013, 2267-2278
  50. Y. Tanaka-Takiguchi, T. Itoh, K. Tsujita, S. Yamada, M. Yanagisawa, K. Fujiwara, A. Yamamoto, M. Ichikawa and K. Takiguchi, Physicochemical analysis from real-time imaging of liposome tubulation reveals the characteristics of individual F-BAR domain proteins, *Langmuir*, 29, 2013, 328-336
  51. T. Itoh and J. Hasegawa, Mechanistic insights into the regulation of circular dorsal ruffle formation, *J. Biochem.*, 153, 2013, 21-29
  52. K. Chishiki, S. Kamakura, S. Yuzawa, J. Hayase, and H. Sumimoto, Ubiquitination of the heterotrimeric G protein  $\alpha$  subunits Gai2 and Gaq is prevented by the guanine nucleotide exchange factor Ric-8A. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 435, 2013, 414-419
  53. N. Nishida, M. Yagi-Utsumi, F. Motojima, M. Yoshida, I. Shimada, K. Kato. Nuclear magnetic resonance approaches for characterizing interactions between the bacterial chaperonin GroEL and unstructured proteins. *J Biosci Bioeng.*, 116, 2013, 160-164.
  54. N. Noda, Y. Fujioka, T. Hanada, Y. Ohsumi and F. Inagaki, Structure of the Atg12-Atg5 conjugate reveals a platform for stimulating Atg8-PE conjugation, *EMBO Rep.*, 14, 2013, 206-211
  55. T. Ikura, and N. Ito, The peptidyl-prolyl isomerase activity of FK506 binding protein 12 prevents tau peptide from aggregating, *Protein Eng. Des. Sel.*, 26, 2013, 539-546
  56. Ishihara T, Ariizumi Y, Shiga A, Kato T, Tan CF, Sato T, Miki Y, Yokoo M, Fujino T, Koyama A, Yokoseki A, Nishizawa M, Kakita A, Takahashi H, Onodera O. Decreased number of Gemini of coiled bodies and U12 snRNA level in amyotrophic lateral sclerosis. *Hum Mol Genet.*, 2013, 22, 4136-47.
  57. Konno T, Shiga A, Tsujino A, Sugai A, Kato T, Kanai K, Yokoseki A, Eguchi H, Kuwabara S, Nishizawa M, Takahashi H, Onodera O. Japanese amyotrophic lateral sclerosis patients with GGGGCC hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.*, 2013, 84, 398-401.
  58. S. Hanashima, N. Fujiwara, K. Matsumoto, N. Iwasaki, G. Q. Zheng, H. Torigoe, K. Suzuki, N. Taniguchi, and Y. Yamaguchi, A Solution <sup>17</sup>O-NMR Approach for Observing an Oxidized Cysteine Residue in Cu,Zn-Superoxide Dismutase, *Chem. Commun.*, 49, 2013, 1449-1451.
  59. T. Fukagawa, Speciation mediated by centromeres, *Dev. Cell*, 27, 2013, 367-368
  60. W.C. Earnshaw, R.C. Allshire, B.E. Black, K. Bloom, B.R. Brinkley, W. Brown, I.M. Cheeseman, K.H. Choo, G.P. Copenhagen, J.G. Deluca, A. Desai, S. Diekmann, S. Erhardt, M. Fitzgerald-Hayes, D. Foltz, T. Fukagawa, R. Gassmann, D.W. Gerlich, D.M. Glover, G.J. Gorbisky, S.C. Harrison, P. Heun, T. Hirota, L.E. Jansen, G. Karpen, G.J. Kops, M.A. Lampson, S.M. Lens, A. Losada, L. Luger, H. Maiato, P.S. Maddox, R.L. Margolis, H. Masumoto, A.D. McAinsh, B.G. Mellone, P. Meraldi, A. Musacchio, K. Oegema, R.J. O'Neill, E.D. Salmon, K.C. Scott, A.F. Straight, P.T. Stukenberg, B.A. Sullivan, K.F. Sullivan, C.E. Sunkel, J.R. Swedlow, C.E. Walczak, P.E. Warburton, S. Westermann, H.F. Willard, L. Wordeman, M. Yanagida, T.J. Yen, K. Yoda, and D.W. Cleveland, Esperanto for histones: CENP-A, not CenH3, is the centromeric histone H3 variant, *Chromosome Res.*, 21, 2013, 101-106
  61. K. Kikuchi, T. Narita, P. Thanh Van, J. Iijima, K. Hirota, I. Shamima Keka, Mohiuddin, K. Okawa, T. Hori, T. Fukagawa, J. Essers,

- R. Kanaar, M. C. Whitby, K. Sugawara, Y. Taniguchi, K. Kitagawa, and S. Takeda, Structure-specific endonucleases Xpf and Mus81 play overlapping but essential roles in DNA repair by homologous recombination, *Cancer Res.*, 73, 2013, 4362-4371
62. W.-H. Shang, T. Hori, N. M.C. Martins, A. Toyoda, S. Misu, N. Monma, I. Hiratani, K. Maeshima, K. Ikeo, A. Fujiyama, H. Kimura, W. C. Earnshaw, and T. Fukagawa, Chromosome Engineering Allows the Efficient Isolation of Vertebrate Neocentromeres, *Dev. Cell*, 24, 2013, 635-648
  63. A. Osakabe, H. Tachiwana, M. Takaku, T. Hori, C. Obuse, H. Kimura, T. Fukagawa, and H. Kurumizaka, Vertebrate Spt2 is a novel nucleolar histone chaperone that assists in ribosomal DNA transcription, *J. Cell Sci.*, 126, 2013, 1323-1332
  64. T. Nishino, F. Rago, T. Hori, K. Tomii, I. M Cheeseman, and T. Fukagawa, CENP-T provides a structural platform for outer kinetochore assembly, *EMBO J.*, 32, 2013, 424-436
  65. T. Hori, W.-H. Shang, K. Takeuchi, and T. Fukagawa, The CCAN recruits CENP-A to the centromere and forms the structural core for kinetochore assembly, *J. Cell Biol.*, 200, 2013, 45-60
  66. J. Hamatsu, D. O'Donovan, T. Tanaka, T. Shirai, Y. Hourai, T. Mikawa, T. Ikeya, M. Mishima, W. Boucher, B. O. Smith, E. D. Laue, M. Shirakawa, and Y. Ito, "High-Resolution Heteronuclear Multidimensional NMR of Proteins in Living Insect Cells Using a Baculovirus Protein Expression System", *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 2013, 1688-1691.
  67. Hembram D.S., Haremaiki T., Hamatsu J., Inoue J., Kamoshida H., Ikeya T., Mishima M., Mikawa T., Hayashi N., Shirakawa M. and Ito Y., "An in-cell NMR study of monitoring stress-induced increase of cytosolic Ca<sup>2+</sup> concentration in HeLa cells.", *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 438, 2013, 653-659.
  68. Lin Y. J., Ikeya T., Guentert P. and Chang L.S., "NMR solution structure of a Chymotrypsin inhibitor from the Taiwan cobra *Naja naja atra.*", *Molecules*, 18, 2013, 8906-8918.
  69. Kamagata, K., Kawaguchi, T., Iwahashi, Y., Baba, A., Fujimoto, K., Komatsuzaki, T., Sambongi, Y., Goto, Y., Takahashi, S., "Long-term observation of fluorescence of free single molecules to explore protein-folding energy landscapes", *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 11525-11532, 2012
  70. Takahashi, S., Kamagata, K., Staring at a protein: ensemble and single molecule investigations on protein folding dynamics: Single-Molecule Biophysics: Experiment and Theory in *Adv. Chem. Phys.*, 146, 3-22, 2012.
  71. S. Fukunaga, H. Ueno, T. Yamaguchi, Y. Yano, M. Hoshino, and K. Matsuzaki, GM1 cluster mediates formation of toxic Ab fibrils by providing hydrophobic environments. *Biochemistry*, 51, 2012, 8125-8131.
  72. N. Hiramatsu, E. Hibino, K. Matsuzaki, J. Kuwahara, and M. Hoshino, Interaction between isolated transcriptional activation domains of Sp1 revealed by heteronuclear magnetic resonance. *Protein Sci.*, 21, 2012, 1481-1488.
  73. K. Kobayashi, S. Oishi, R. Hayashi, K. Tomita, T. Kubo, N. Tanahara, H. Ohno, Y. Yoshikawa, T. Furuya, M. Hoshino, and Nobutaka Fujii, Structure-Activity Relationship Study of a CXC Chemokine Receptor Type 4 Antagonist, FC131, Using a Series of Alkene Dipeptide Isosteres. *J. Med. Chem.*, 55, 2012, 2746-2757.
  74. Furukawa, A., Okamura, H., Morishita, R., Matsunaga, S., Kobayashi, N., Ikegami, T., Kodaki, T., Takaori-Kondo, A., Ryo, A., Nagata, T. and Katahira, M. NMR study of xenotropic murine leukemia virus-related virus protease in a complex with amprevir. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 425, 284-289, 2012.
  75. K. Hongo, H. Itai, T. Mizobata, and Y. Kawata, Varied effects of *Pyrococcus furiosus* prefoldin and *P. furiosus* chaperonin on the refolding reactions of substrate proteins, *J. Biochem.*, 151, 2012, 383-390
  76. K. Noi, A. Kitamura, H. Hirai, K. Hongo, T. Sakurai, T. Mizobata, and Y. Kawata, Suppression of Sup35 amyloid fibril formation by group II chaperonin from *Thermoplasma acidophilum*, *Am. J. Mol. Biol.*, 2, 2012, 265-275
  77. Y. Izawa, H. Tateno, H. Kameda, K. Hirakawa, K. Hato, H. Yagi, K. Hongo, T. Mizobata, and Y. Kawata, Role of C-terminal negative charges and tyrosine residues in fibril formation of  $\alpha$ -synuclein, *Brain and Behavior*, 2, 2012, 595-605
  78. M. Hiroshima, Y. Saeki, M. Okada-Hatakeyama, and Y. Sako, Dynamically varying interactions between heregulin and ErbB proteins detected by single-molecule analysis in living cells, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 2012, 13984-13989
  79. K. Okamoto and Y. Sako, Variational Bayes analysis of a photon-based hidden Markov model for single-molecule FRET trajectories, *Biophys. J.*, 103, 2012 1315-1324
  80. K. Oishi, H. Kurahashi, C.-G. Pack, Y. Sako, and Y. Nakamura, A bipolar functionality of Q/N-rich proteins: Lsm4 amyloid causes clearance of yeast prions, *MicrobiologyOpen*, 2012, doi: 10.1002/mbo3.83
  81. Tomoaki T, Tomohiko U, Mayuko F, Junji H-Muto, Taketoshi H, Yumiko O, Sachie H, Shigemi T, Yoko A, Kazuo K. 3,4-Dicaffeoylquinic Acid, a Major Constituent of Brazilian Propolis, Increases TRAIL Expression and Extends the Lifetimes of Mice Infected with the Influenza A Virus. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012
  82. K. Yamaguchi, T. Matsumoto, K. Kuwata. Proper calibration of ultrasonic power enabled the quantitative analysis of the ultrasonication-induced amyloid formation process. *Protein Science*, 21, 38-49, 2012
  83. J.-H. Muto, T. Kimura, K. Kuwata. Respiratory and cardiovascular toxicity studies of a novel anti-prion compound, GN8, in rats and dogs. *Drug and Chemical Toxicology*, 35, 264-271, 2012
  84. M. Fukuoka, M. Minakuchi, A. Kawaguchi, K. Nagata, Yuji O. Kamatari, K. Kuwata. Structure based discovery of anti-influenza virus A compounds among medicines. *BBA-General Subjects*, 1820(2), 90-95, 2012
  85. Yamada K, Koyama H, Hagiwara K, Ueda A, Sasaki Y, Kaneshashi SN, Ueno R, Nakamura HK, Kuwata K., Shimizu K, Suzuki M, Aida Y. Identification of a novel compound with antiviral activity against influenza A virus depending on PA subunit of viral RNA polymerase. *Microbes and infection / Institut Pasteur*, 14, 740-747, 2012
  86. D. Oikawa, A. Kitamura, M. Kinjo, T. Iwawaki, Direct association of unfolded proteins with mammalian ER stress sensor, IRE1 $\beta$ , *PLoS ONE*, 7, 2012, e51290
  87. J.- So, K.- Hur, M. Tarrio, V. Ruda, M. Frank-Kamenetsky, K. Fitzgerald, V. Koteliansky, A. H. Lichtman, T. Iwawaki, W- Yang, L. H. Glimcher, A.- Lee, Silencing of lipid metabolism genes through IRE1 $\alpha$ -mediated mRNA decay lowers plasma lipids in mice" *Cell Metab.*, 16, 2012, 487-499
  88. M. Ri, E. Tashiro, D. Oikawa, S. Shinjo, M. Tokuda, Y. Yokouchi, T. Narita, A. Masaki, A. Ito, J. Ding, S. Kusumoto, T. Ishida, H. Komatsu, Y. Shiotsu, R. Ueda, T. Iwawaki, M. Imoto, S. Iida, Identification of toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing, *Blood Cancer J.*, 2, 2012, e79
  89. K. Y. Hur, J- So, V. Ruda, M. Frank-Kamenetsky, K. Fitzgerald, V. Koteliansky, T. Iwawaki, L. H. Glimcher, A.- Lee, IRE1 $\alpha$

- activation protects mice against acetaminophen-induced hepatotoxicity, *J. Exp. Med.*, 209, 2012, 307-318
90. D. Oikawa, R. Akai, M. Tokuda, T. Iwawaki, A transgenic mouse model for monitoring oxidative stress, *Sci. Rep.*, 2, 2012, no. 229
  91. H. Endo, Y. Nakabayashi, S. Kawashima, T. Enomoto, M. Seki and M. Horikoshi, Nucleosome surface containing nucleosomal DNA entry/exit site regulates H3-K36me3 via association with RNA polymerase II and Set2, *Genes Cells*, 17, 2012, 65-81
  92. K. Fujiwara and H. Taguchi, Mechanism of methionine synthase overexpression in chaperonin-depleted Escherichia coli, *Microbiology*, 158, 2012, 917-924
  93. T. Niwa, T., T. Kanamori, T. Ueda, and H. Taguchi, Global Analysis of Chaperone Effects Using a Reconstituted Cell-Free Translation System, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 2012, 8937-8942
  94. T. Nojima, T. Ikegami, H. Taguchi, and M. Yoshida, Flexibility of GroES mobile loop is required for efficient chaperonin function, *J. Mol. Biol.*, 422, 2012, 291-299
  95. T. Nojima, H. Konno, N. Kodera, K. Seio, H. Taguchi, and M. Yoshida, Nano-scale alignment of proteins on a flexible DNA back-bone, *PLoS One*, 7, 2012, e52534
  96. C.P. Xavier, R.H. Rastetter, M. Blomacher, M. Stumpf, M. Himmel, R.O. Morgan, M.P. Fernandez, C. Wang, A. Osman, Y. Miyata, R.A. Gjerset, L. Eichinger, A. Hofmann, S. Linder, A.A. Noegel, and C.S. Clemen, Phosphorylation of CRN2 by CK2 regulates F-actin and Arp2/3 interaction and inhibits cell migration, *Sci. Rep.*, 2, 2012, 241-254
  97. W. Xu, M. Mollapour, C. Prodromou, S. Wang, B. T. Scroggins, Z. Palchick, K. Beebe, M. Siderius, M. -J. Lee, A. Couvillon, J. B. Trepel, Y. Miyata, R. Matts, and L. Neckers, Dynamic tyrosine phosphorylation modulates cycling of the Hsp90-p50Cdc37-Aha1 chaperone machine, *Mol. Cell*, 47, 2012, 434-443
  98. S. Zanin, C. Borgo, C. Girardi, S.E. O'Brien, Y. Miyata, L.A. Pinna, A. Donella-Deana, and M. Ruzzene, Effects of the CK2 inhibitors CX-4945 and CX-5011 on drug-resistant cells, *PLOS One*, 7, 2012, e49193.
  99. H. C. Lee, T. Inoue, J. Sasaki, T. Kubo, S. Matsuda, Y. Nakasaki, M. Hattori, F. Tanaka, O. Udagawa, N. Kono, T. Itoh, H. Ogiso, R. Taguchi, M. Arita, T. Sasaki and H. Arai, LPIAT1 regulates arachidonic acid content in phosphatidylinositol and is required for cortical lamination in mice, *Mol. Biol. Cell*, 23, 2012, 4689-4700
  100. K. Kato, T. Yazawa, K. Taki, K. Mori, S. Wang, T. Nishioka, T. Hamaguchi, T. Itoh, T. Takenawa, C. Kataoka, Y. Matsuura, M. Amano, T. Murohara and K. Kaibuchi, The inositol 5-phosphatase SHIP2 is an effector of RhoA and is involved in cell polarity and migration, *Mol. Biol. Cell*, 23, 2012, 2593-2604
  101. T. Itoh, [Mechanisms for the regulation of the plasma membrane curvature in endocytosis], *Seikagaku*, 84, 2012, 5-17
  102. Y. Irino, E. Tokuda, J. Hasegawa, T. Itoh and T. Takenawa, Quantification and visualization of phosphoinositides by quantum dot-labeled specific binding-domain probes, *J. Lipid Res.*, 53, 2012, 810-819
  103. J. Hasegawa, K. Tsujita, T. Takenawa and T. Itoh, ARAP1 regulates the ring size of circular dorsal ruffles through Arf1 and Arf5, *Mol. Biol. Cell*, 23, 2012, 2481-2489
  104. S. Matsumoto, M. Igura, J. Nyirenda, M. Matsumoto, S. Yuzawa, N. Noda, F. Inagaki, and D. Kohda, Crystal structure of the C-terminal globular domain of oligosaccharyltransferase from *Archaeoglobus fulgidus* at 1.75 Å resolution, *Biochemistry*, 51, 2012, 4157-4166
  105. T. Nojima, T. Ikegami, H. Taguchi, M. Yoshida. Flexibility of GroES Mobile Loop Is Required for Efficient Chaperonin Function. *J. Mol Biol.*, 422, 2012, 291-299.
  106. F. Motojima, Y. Motojima-Miyazaki, M. Yoshida. Revisiting the contribution of negative charges on the chaperonin cage wall to the acceleration of protein folding. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 2012, 15740-15745.
  107. M. Yamaguchi, K. Matoba, R. Sawada, Y. Fujioka, H., Nakatogawa, H. Yamamoto, Y. Kobashigawa, H. Hoshida, R. Akada, Y. Ohsumi, N. Noda and F. Inagaki, Non-canonical recognition and Ubl-loading of distinct E2s by autophagy-essential Atg7, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 19, 2012, 1250-1256
  108. Y. Watanabe, T. Kobayashi, H. Yamamoto, H. Hoshida, R. Akada, F. Inagaki, Y. Ohsumi and N. Noda, Structure-based analyses reveal distinct binding sites for Atg2 and phosphoinositides in Atg18, *J. Biol. Chem.*, 287, 2012, 31681-31690
  109. N. Iwaya, K. Akiyama, N. Goda, T. Tenno, Y. Fujiwara, D. Hamada, T. Ikura, M. Shirakawa, and H. Hiroaki, Effect of Ca(2+) on the microtubule-severing enzyme p60-katanin: Insight into the substrate-dependent activation mechanism, *FEBS J.*, 279, 2012, 1339-1352
  110. Shiga A, Ishihara T, Miyashita A, Kuwabara M, Kato T, Watanabe N, Yamahira A, Kondo C, Yokoseki A, Takahashi M, Kuwano R, Kakita A, Nishizawa M, Takahashi H, Onodera O. Alteration of POLDIP3 splicing associated with loss of function of TDP-43 in tissues affected with ALS. *PLoS One.*, 2012, 7, e43120.
  111. Soma K, Fu YJ, Wakabayashi K, Onodera O, Kakita A, Takahashi H. Co-occurrence of argyrophilic grain disease in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol.*, 38, 2012, 54-60.
  112. H. Torigoe, Y. Miyakawa, A. Ono, and T. Kozasa, Positive Cooperativity of the Specific Binding between Hg<sup>2+</sup> Ion and T:T Mismatched Base Pairs in Duplex DNA, *Thermochimica Acta*, 532, 2012, 28-35.
  113. H. Torigoe, O. Nakagawa, T. Imanishi, S. Obika, and K. Sasaki, Chemical Modification of Triplex-forming Oligonucleotide to Promote Pyrimidine Motif Triplex Formation at Physiological pH, *Biochimie*, 94, 2012, 1032-1040.
  114. H. Torigoe, N. Sato, and N. Nagasawa, 2'-O,4'-C-Ethylene Bridged Nucleic Acid Modification Enhances Pyrimidine Motif Triplex-Forming Ability under Physiological Condition, *J. Biochem.*, 152, 2012, 17-26.
  115. H. Torigoe, I. Okamoto, T. Dairaku, Y. Tanaka, A. Ono, and T. Kozasa, Thermodynamic and Structural Properties of the Specific Binding between Ag<sup>+</sup> Ion and C:C Mismatched Base Pair in Duplex DNA to Form C-Ag-C Metal-Mediated Base Pair, *Biochimie*, 94, 2012, 2431-2440.
  116. T. Yamamoto, M. Harada-Shiba, M. Nakatani, S. Wada, H. Yasuhara, K. Narukawa, K. Sasaki, M. Shibata, H. Torigoe, T. Yamaoka, T. Imanishi and S. Obika, Cholesterol-lowering Action of BNA-based Antisense Oligonucleotides Targeting PCSK9 in Atherogenic Diet-induced Hypercholesterolemic Mice, *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 1, 2012, e22.
  117. S. Wada, S. Obika, M. Shibata, T. Yamamoto, M. Nakatani, T. Yamaoka, H. Torigoe, and M. Harada-Shiba, Development of a 2',4'-BNA/LNA Based siRNA for Dyslipidemia and Assessment of the Effects of Its Chemical Modifications in vivo, *Molecular Therapy-Nucleic Acids*, 1, 2012, e45.
  118. T. Funai, Y. Miyazaki, M. Aotani, E. Yamaguchi, O. Nakagawa, S. Wada, H. Torigoe, A. Ono, and H. Urata, Ag(I) Ion Mediated

- Formation of a C-A Mispair by DNA Polymerases, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 51, 2012, 6464-6466.
119. K. Ihara, N. Fujiwara, Y. Yamaguchi, H. Torigoe, S. Wakatsuki, N. Taniguchi, and K. Suzuki, Structural Switching of Cu,Zn-Superoxide Dismutases at Loop VI: Insights from the Crystal Structure of 2-Mercaptoethanol Modified Enzyme, *Biosci. Rep.*, 32, 2012, 539-548.
  120. A. Krasikova, T. Fukagawa, and A. Zlotina, High-resolution mapping and transcriptional activity analysis of chicken centromere sequences on giant lampbrush chromosomes, *Chromosome Res.*, 20, 2012, 995-1008
  121. K. Nishimura, M. Ishiai, K. Horikawa, T. Fukagawa, M. Takata, H. Takisawa, and M. T. Kanemaki, Mcm8 and Mcm9 Form a Complex that Functions in Homologous Recombination Repair Induced by DNA Interstrand Crosslinks, *Mol. Cell*, 47, 2012, 511-522
  122. T. Hori, and T. Fukagawa, Establishment of the vertebrate kinetochores, *Chromosome Res.*, 20, 2012, 547-561
  123. T. Fukagawa, Formation of a centromeric-specific chromatin structure, *Epigenetics*, 7, 2012, 672-675
  124. E. Ohfuchi-Maruyama, T. Hori, H. Tanabe, H. Kitamura, R. Matsuda, S. Tone, P. Hozak, F. A. Habermann, J. von Hase, C. Cremer, T. Fukagawa, and M. Harata, The actin family member Arp6 and the histone variant H2A.Z are required for spatial positioning of chromatin in chicken cell nuclei, *J. Cell Sci.*, 125, 2012, 3739-3743
  125. K. Takeuchi, and T. Fukagawa, Molecular architecture of vertebrate kinetochores, *Exp. Cell Res.*, 318, 2012, 1367-1374
  126. T. Nishino, K. Takeuchi, K. E. Gascoigne, A. Suzuki, T. Hori, T. Oyama, K. Morikawa, I. M. Cheeseman, and T. Fukagawa, CENP-T-W-S-X Forms a Unique Centromeric Chromatin Structure with a Histone-like Fold, *Cell*, 148, 2012, 487-501
  127. Moesa H A, Wakabayashi S, Nakai K and Patil A. Chemical composition is maintained in poorly conserved intrinsically disordered regions and suggests a means for their classification. *Molecular BioSystems*, 8, 2012, 3262-73.
  128. R. Arai, N. Kobayashi, A. Kimura, T. Sato, K. Matsuo, A.F. Wang, J.M. Platt, L.H. Bradley, and M.H. Hecht, Domain-swapped dimeric structure of a stable and functional de novo 4-helix bundle protein, WA20. *J. Phys. Chem. B*, 116, 2012, 6789-6797
  129. R. Arai, S. Fukui, N. Kobayashi, and J. Sekiguchi, Solution structure of IseA, an inhibitor protein of DL-endopeptidases from *Bacillus subtilis*, reveals a novel fold with a characteristic inhibitory loop. *J. Biol. Chem.*, 287, 2012, 44736-44748
  130. T. Nakamura, K. Torikai, K. Uegaki, J. Morita, K. Machida, A. Suzuki, and Y. Kawata, Crystal structure of the cambialistic superoxide dismutase from *Aeropyrum pernix* K1: insights into the enzyme mechanism and stability, *FEBS J.*, 278, 2011, 598-609
  131. T. Sakurai, T. Iwasaki, T. Okuno, Y. Kawata, and N. Kise, Evaluation of A $\beta$  fibrillization inhibitory effect by a PEG-peptide conjugate based on an A $\beta$  peptide fragment with intramolecular FRET, *Chem. Commun.*, 47, 2011, 4709-4711
  132. H. Iwasa, S. Meshitsuka, K. Hongo, T. Mizobata, and Y. Kawata, Covalent structural changes in unfolded GroES that lead to amyloid fibril formation detected by NMR: Insight into intrinsically disordered proteins, *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 21796-21805
  133. T. Mizobata, T. Uemura, K. Isaji, T. Hirayama, K. Hongo, and Y. Kawata, Probing the Functional Mechanism of *Escherichia coli* GroEL Using Circular Permutation, *PLoS ONE*, 6, 2011, e26462
  134. S. Noguchi, K. Toyoshima, S. Yamamoto, T. Miyazaki, M. Otaka, S. Watanabe, K. Imai, H. Senoo, R. Kobayashi, M. Jikei, Y. Kawata, H. Kubota, and H. Itoh, Cytosolic chaperonin CCT possesses GTPase activity, *Am. J. Mol. Biol.*, 1, 2011, 123-130
  135. Y. Seki, Y. Shimbo, T. Nonaka, K. Soda, New Efficient Method for Generating Conformations of Unfolded Proteins with Diverse Main-Chain Dihedral-Angle Distributions, *J. Chem. Theory Comput.*, 7, 2011, 2126-2136.
  136. S. Nakamura, Y. Seki, E. Katoh, S. Kidokoro, Thermodynamic and Structural Properties of the Acid Molten Globule State of Horse Cytochrome c. *Biochemistry*, 50, 2011, 3116-26.
  137. K. Soda, Y. Shimbo, Y. Seki, M. Taiji, Structural characteristics of hydration sites in lysozyme, *Biophys. Chem.*, 156, 2011, 31-42.
  138. T. Oroguchi, M. Ikeguchi, Effects of ionic strength on SAXS data for proteins revealed by molecular dynamics simulations, *J. Chem. Phys.*, 272, 2011, 025102
  139. H. Kurahashi, C.-G. Pack, S. Shibata, K. Oishi, Y. Sako, and Y. Nakamura, [PSI<sup>+</sup>] aggregate enlargement in rmq1 non-prion domain mutants, leading to a loss-of-prion yeast, *Genes to Cells*, 16, 2011, 546-589
  140. T. Kimura, J. Hosokawa-Muto, K. Asami, T. Murai, K. Kuwata. Synthesis of 9-substituted 2,3,4,9- tetrahydro-1H-carbazole derivatives and evaluation of their anti-prion activity in TSE-infected cells. *European journal of medicinal chemistry*, 46, 5675-5679, 2011
  141. Sanghera N, Correia B.E, Correia J.R, Ludwig C, Agarwal S, Nakamura H. K, Kuwata K, Samain E, Gill AC, Bonev BB, Pinheiro TJ. Deciphering the Molecular Details for the Binding of the Prion Protein to Main Ganglioside GM1 of Neuronal Membranes. *Chemistry & biology*, 18, 1422-31, 2011
  142. T. Ishikawa, K. Kuwata. RI-MP2 Gradient Calculation of Large Molecules Using the Fragment Molecular Orbital Method. *The journal of physical chemistry letters*, 3, 375-379, 2011
  143. T. Urushisaki, T. Takemura, S. Tazawa, M. Fukuoka, J. Hosokawa-Muto, Y. Araki, K. Kuwata. Caffeoylquinic acids are major constituents with potent anti-influenza effects in Brazilian green Propolis water extract. *ECAM*, Article ID254914, 7 pages, 2011
  144. T. Kimura, J. Hosokawa-Muto, Yuji O. Kamatari, K. Kuwata. Synthesis of GN8 derivatives and evaluation of their antiprion activity in TSE-infected cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 1502-1507, 2011
  145. K. Ikeda, T. Kameda, E. Harada, H. Akutsu, and T. Fujiwara, Combined use of replica-exchange molecular dynamics and magic-angle-spinning solid-state NMR spectral simulations for determining the structure and orientation of membrane-bound peptide, *J. Phys. Chem. B*, 115, 2011, 9327-9336.
  146. T. Iwawaki, M. Tokuda, Function of yeast and amphioxus tRNA ligase in IRE1 $\alpha$ -dependent XBP1 mRNA splicing, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 413, 2011, 527-531
  147. T. Tohmonda, Y. Miyauchi, R. Ghosh, M. Yoda, S. Uchikawa, J. Takito, H. Morioka, M. Nakamura, T. Iwawaki, K. Chiba, Y. Toyama, F. Urano, K. Horiuchi, The IRE1 $\alpha$ -XBP1 pathway is essential for osteoblast differentiation through promoting transcription of Osterix, *EMBO Rep.*, 12, 2011, 451-457
  148. E. Thorp, T. Iwawaki, M. Miura, I. Tabas, A reporter for tracking the unfolded protein response in vivo reveals patterns of temporal and cellular stress during atherosclerotic progression, *J. Lipid Res.*, 52, 2011, 1033-1038
  149. Y. Miyazaki, K. Kaikita, M. Endo, E. Horio, M. Miura, K. Tsujita, S. Hokimoto, M. Yamamuro, T. Iwawaki, T. Gotoh, H. Ogawa, Y. Oike, C/EBP homologous protein deficiency attenuates myocardial reperfusion injury by inhibiting myocardial apoptosis and inflammation, *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 31, 2011, 1124-1132

150. A. Hosoda, A. Maruyama, D. Oikawa, Y. Oshima, Y. Komachi, G. Kanai, H. Sato, T. Iwawaki, Detection of ER stress in vivo by Raman spectroscopy, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 405, 2011, 37-41
151. A. Kawano, Y. Hayashi, S. Noguchi, H. Handa, M. Horikoshi and Y. Yamaguchi, Global analysis for functional residues of histone variant Htz1 using the comprehensive point mutant library, *Genes Cells*, 16, 2011, 590-607
152. L. R. Kundu, M. Seki, H. Murofushi, A. Furukohri, S. Waga, A. J. Score, J. J. Blow, M. Horikoshi, T. Enomoto and S. Tada, Biphasic chromatin binding of histone chaperone FACT during eukaryotic chromatin DNA replication, *Biochim. Biophys. Acta*, 1813, 2011, 1129-36
153. S. Kawashima, Y. Nakabayashi, K. Matsubara, N. Sano, T. Enomoto, K. Tanaka, M. Seki and M. Horikoshi, Global analysis of core histones reveals nucleosomal surfaces required for chromosome bi-orientation, *EMBO J.*, 30, 2011, 3353-3367
154. T. Abe, K. Sugimura, Y. Hosono, Y. Takami, M. Akita, A. Yoshimura, S. Tada, T. Nakayama, H. Murofushi, K. Okumura, S. Takeda, M. Horikoshi, M. Seki and T. Enomoto, The histone chaperone FACT maintains replication fork rates, *J. Biol. Chem.*, 2011, 30504-30512
155. K. Ishikawa, T. Ohsumi, S. Tada, R. Natsume, L. R. Kundu, N. Nozaki, T. Senda, T. Enomoto, M. Horikoshi and M. Seki, The roles of histone chaperone CIA/Asf1 in nascent DNA elongation during nucleosome replication, *Genes Cells*, 16, 2011, 1050-1062
156. Ito T, Tsuruta S, Tomita K, Kikuchi K, Yokoi T, Aizawa Y. Genes that Integrate multiple adipogenic signaling pathways in human mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 409, 2011, 786-91
157. Isogai S, Morimoto D, Arita K., Unzai S, Tenno T, Hasegawa J, Sou YS, Komatsu M, Tanaka K, Shirakawa M, Tochio H., Crystal structure of the UBA domain of p62 and its interaction with ubiquitin., *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 31864-31874.
158. Isogai S, Morimoto D, Arita K., Unzai S, Tenno T, Hasegawa J, Sou YS, Komatsu M, Tanaka K, Shirakawa M, Tochio H., Crystal structure of the UBA domain of p62 and its interaction with ubiquitin., *J. Biol. Chem.*, 286, 2011, 31864-31874.
159. S. Yuzawa, S. Kamakura, Y. Iwakiri, J. Hayase, and H. Sumimoto, Structural basis for interaction between the conserved cell polarity proteins Inscuteable and Leu-Gly-Asn repeat-enriched protein (LGN), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 108, 2011, 19210-19215
160. H. Hirano, and Y. Matsuura, Sensing actin dynamics: Structural basis for G-actin-sensitive nuclear import of MAL. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 414, 2011, 373-378.
161. K. Kasahara, Y. Ohyama, T. Kokubo, Hmo1 directs pre-initiation complex assembly to an appropriate site on its target gene promoters by masking a nucleosome-free region, *Nucleic Acids Res.*, 39, 2011, 4136-4150.
162. F. Sugihara, K. Kasahara, T. Kokubo, Highly redundant function of multiple AT-rich sequences as core promoter elements in the TATA-less RPS5 promoter of *Saccharomyces cerevisiae*, *Nucleic Acids Res.*, 39, 2011, 59-75.
163. H. Torigoe, Y. Miyakawa, A. Ono, and T. Kozasa, Thermodynamic Properties of the Specific Binding between Ag<sup>+</sup> Ion and C:C Mismatched Base Pairs in Duplex DNA, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 30, 2011, 149-167.
164. H. Torigoe, A. Ono, and T. Kozasa, Detection of Single Nucleotide Polymorphisms by the Specific Interaction between Transition Metal Ions and Mismatched Base Pairs in Duplex DNA, *Transition Metal Chemistry*, 36, 2011, 131-144.
165. H. Torigoe, S. M. A. Rahman, H. Takuma, N. Sato, T. Imanishi, S. Obika, and K. Sasaki, 2'-O,4'-C-Aminomethylene Bridged Nucleic Acid Modification with Enhancement of Nuclease Resistance Promotes Pyrimidine Motif Triplex Nucleic Acid Formation at Physiological pH, *Chemistry Eur. J.*, 17, 2011, 2742-2751.
166. H. Torigoe, S. M. A. Rahman, H. Takuma, N. Sato, T. Imanishi, S. Obika, and K. Sasaki, Interrupted 2'-O,4'-C-Aminomethylene Bridged Nucleic Acid Modification Enhances Pyrimidine Motif Triplex-Forming Ability And Nuclease Resistance Under Physiological Condition, *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic Acids*, 30, 2011, 63-81.
167. M. Perpelescu, and T. Fukagawa, The ABCs of CENPs, *Chromosoma*, 120, 2011, 425-446
168. K. E. Gascoigne, K. Takeuchi, A. Suzuki, T. Hori, T. Fukagawa, and I. M. Cheeseman, Induced ectopic kinetochore assembly bypasses the requirement for CENP-A nucleosomes, *Cell*, 145, 2011, 410-422
169. A. Suzuki, T. Hori, T. Nishino, J. Usukura, A. Miyagi, K. Morikawa, and T. Fukagawa, Spindle microtubules generate tension-dependent changes in the distribution of inner kinetochore proteins, *J. Cell Biol.*, 193, 2011, 125-140
170. A. Suzuki, and T. Fukagawa, Cell Biological Analysis of DT40 Knockout Cell Lines for Cell-Cycle Genes, *Curr. Prot. Cell Biol.*, 50, 2011, 8.7.1-8.7.17
171. S. Tanaka, Y. Kawata, G. Otting, N.E. Dixon, K. Matsuzaki, and M. Hoshino, Chaperonin-encapsulation of proteins for NMR, *Biochim. Biophys. Acta/Proteins and Proteomics*, 1804, 2010, 866-871
172. H. Yagi, H. Takeuchi, S. Ogawa, N. Ito, I. Sakane, K. Hongo, T. Mizobata, Y. Goto, and Y. Kawata, Isolation of short peptide fragments from  $\alpha$ -synuclein fibril core identifies a residue important for fibril nucleation: A possible implication for diagnostic applications, *Biochim. Biophys. Acta/Proteins and Proteomics*, 1804, 2010, 2077-2087
173. T. Ishikawa and K. Kuwata, Interaction Analysis of the Native Structure of Prion Protein with Quantum Chemical Calculations. *J. Chem. Theory Comput.*, 6, 538-547, 2010
174. Satoshi Endo, Toshiyuki Matsunaga, K. Kuwata, Hai-Tao Zhao, Ossama El-Kabbani, Yukio Kitade, Akira Hara. Chromene-3-carboxamide derivatives discovered from virtual screening as potent inhibitors of the tumour maker, AKR1B10 *Bioorg. Med. Chem.*, 18, 2485-2490, 2010
175. T. Ishikawa and K. Kuwata, Acceleration of monomer self-consistent charge process in fragment molecular orbital method. *Chem-Bio Inform. J.*, 10, 24-31, 2010
176. N. Yamamoto, K. Kuwata, Redox behaviors of the neurotoxic portion in human prion protein, HuPrP(106-126) *Chemical Physics Letters*, 498, 184-187, 2010
177. T. Ishikawa, N. Yamamoto and K. Kuwata, Partial energy gradient based on the fragment molecular orbital method: application to geometry optimization *Chemical Physics Letters*, 500, 149-154, 2010
178. H. Nakagawa and M. Kataoka, Percolation of Hydration Water as a Control of Protein Dynamics, *J. Phys. Soc. Jpn.*, 79, 2010, 083801
179. Y. Akai, N. Adachi, Y. Hayashi, M. Eitoku, N. Sano, R. Natsume, N. Kudo, M. Tanokura, T. Senda and M. Horikoshi, Structure of the histone chaperone CIA/ASF1-double bromodomain complex connecting histone modifications and site-specific histone eviction, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 107, 2010, 8153-8158
180. L. Sato, S. Noguchi, Y. Hayashi, M. Sakamoto and M. Horikoshi, Global analysis of functional relationships between histone point

- mutations and the effects of histone deacetylase inhibitors, *Genes Cells*, 15, 2010, 553-594
181. H. Endo, S. Kawashima, L. Sato, M. S. Lai, T. Enomoto, M. Seki and M. Horikoshi, Chromatin dynamics mediated by histone modifiers and histone chaperones in postreplicative recombination, *Genes Cells*, 15, 2010, 945-958
182. H. Kosako and N. Imamoto, Phosphorylation of nucleoporins: signal transduction-mediated regulation of their interaction with nuclear transport receptors, *Nucleus*, 1, 2010, 309-313.
183. Y. Maehara, K. Miyano, S. Yuzawa, R. Akimoto, R. Takeya, and H. Sumimoto, A conserved region between the TPR and activation domains of p67<sup>phox</sup> participates in activation of the phagocyte NADPH oxidase, *J. Biol. Chem.*, 285, 2010, 31435-31445
184. Y. Ogawa, Y. Nonaka, T. Goto, E. Ohnishi, T. Hiramatsu, I. Kii, M. Yoshida, T. Ikura, H. Onogi, H. Shibuya, T. Hosoya, N. Ito, and M. Hagiwara, Development of a novel selective inhibitor of the Down syndrome-related kinase Dyrk1A, *Nat. Commun.*, 1, 2010, 1-9
185. Y. Ohyama, K. Kasahara, T. Kokubo, *Saccharomyces cerevisiae* Ssd1p promotes CLN2 expression by binding to the 5'-untranslated region of CLN2 mRNA, *Genes to Cells*, 14, 2010, 53-67.
186. K. Ohtsuki, K. Kasahara, T. Kokubo, Genome-wide localization analysis of a complete set of Taf proteins reveals a specific effect of the taf1 mutation on Taf2 occupancy and provides indirect evidence for different TFIID conformations at different promoters, *Nucleic Acids Res.*, 38, 2010, 1805-1820.
187. H. Torigoe, A. Ono, and T. Kozasa, Hg<sup>II</sup> Ion Specifically Binds with T:T Mismatched Base Pair in Duplex DNA, *Chemistry Eur. J.*, 16, 2010, 13218-13225.
188. J. C. Schmidt, T. Kiyomitsu, T. Hori, C. B. Backer, T. Fukagawa, and I. M. Cheeseman, Aurora B kinase controls the targeting of the Astrin/SKAP complex to bi-oriented kinetochores, *J. Cell Biol.*, 191, 2010, 269-280
189. S. Ohta, J.-C. Bukowski-Wills, L. Sanchez-Pulido, F. de Lima Alves, L. Wood, Z. Chen, M. Platani, L. Fischer, D. F. Hudson, C. P. Ponting, T. Fukagawa, W. C. Earnshaw, and J. Rappsilber, The protein composition of mitotic chromosomes determined using multi-classifier combinatorial proteomics, *Cell*, 142, 2010, 810-821
190. W.-H. Shang, T. Hori, A. Toyoda, J. Kato, K. Pependorf, Y. Sakakibara, A. Fujiyama, and T. Fukagawa, Chickens possess centromeres with both extended tandem repeats and short non-tandem-repetitive sequences, *Genome Res.*, 20, 2010, 1219-1228
191. S. A. Ribeiro, P. Vagnarell, Y. Dong, T. Hori, B. F. McEwen, T. Fukagawa, C. Flors, and W. C. Earnshaw, A super-resolution map of the vertebrate kinetochore, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 2010, 10484-10489
192. K. Johnston, A. Joglekar, T. Hori, A. Suzuki, T. Fukagawa, and E. D. Salmon, Vertebrate Kinetochore Protein Architecture: Protein Copy Number, *J. Cell Biol.*, 189, 2010, 937-943
193. Y. Cheng, H. Geng, S. H. Cheng, P. Liang, Y. Bai, J. Li, G. Srivastava, M. H.L. Ng, T. Fukagawa, X. Wu, A. T.C. Chan, and Q. Tao, The KRAB zinc finger protein ZNF382 is a general, proapoptotic tumor suppressor repressing multiple oncogenes and frequently silenced in multiple carcinomas, *Cancer Res.*, 70, 2010, 6516-6526
194. J. P. I. Welburn, M. Vleugel, D. Liu, J. R. Yates III, M. A. Lampson, T. Fukagawa, and I. M. Cheeseman, Aurora B phosphorylates spatially distinct targets to differentially regulate the kinetochore-microtubule interface, *Mol. Cell*, 38, 2010, 383-392
195. R. Matsuda, T. Hori, H. Kitamura, K. Takeuchi, T. Fukagawa, and M. Harata, Identification and characterization of two isoforms of the vertebrate H2A.Z histone variant, *Nucl. Acids Res.*, 38, 2010, 4263-4273
196. D. Liu, M. Vleugel, C. B. Backer, T. Hori, T. Fukagawa, I. M. Cheeseman, and M. A. Lampson, Regulated targeting of protein phosphatase 1 to the outer kinetochore by KNL1 opposes Aurora B kinase, *J. Cell Biol.*, 188, 2010, 809-820
197. Gromiha, M. M. and Sarai, A. Thermodynamic Database for Proteins: Features and Applications. *Biological Data Mining, Methods Mol. Biol.*, 609, 2010, 97-112.
198. Fernandez, M., Caballero, J., Fernandez, L. and Sarai, A. Genetic algorithm optimization in drug design QSAR: Bayesian-regularized genetic neural networks (BRGNN) and genetic algorithm-optimized support vectors machines (GA-SVM). *Mol. Divers.*, 15, 2010, 269-289.
199. Ahmad, S., Keskin, O., Mizuguchi, K., Sarai, A. and Nussinov, R. CCR XP: Exploring clusters of conserved residues in protein structures. *Nucleic Acids Res.*, 38, 2010, 398-401.
200. Fernandez, M., Ahmad, S. and Sarai, A. Proteochemometric recognition of stable kinase inhibition complexes using Topological Autocorrelation and Support Vector Machines. *J. Chem. Inf. Model.*, 50, 2010, 1179-1188.

## 主催シンポジウム

- 第1回公開シンポジウム(平成 22 年 1 月 19 日、理化学研究所横浜研究所交流棟ホール)
- 第2回公開シンポジウム(平成 24 年 1 月 24 日～25 日 大阪千里ライフサイエンスセンター)
- 第3回公開シンポジウム(平成 26 年 2 月 27 日～28 日 九州大学医学部百年講堂)
- 第1回国際シンポジウム(平成 23 年 1 月 27 日～28 日、横浜市、浜銀ホール・ヴィアマール)
- 第2回国際シンポジウム(平成 25 年 1 月 23 日～24 日 理化学研究所横浜研究所交流棟ホール)

## 若手育成講習会

- 第1回講習会(平成 22 年 9 月 10 日、横浜市立大学鶴見キャンパス)コンピュータによる天然変性タンパク質(領域)の探索
- 第2回講習会(平成 23 年 4 月 26 日、大阪大学蛋白質研究所)NMR によるタンパク質解析法の基礎的理解(概論と実習)
- 第3回講習会(平成 24 年 9 月 12-13 日大型放射光施設:SPRING-8)X線溶液散乱によるタンパク質の構造解析法の基礎的理解
- 第4回講習会(平成 25 年 5 月 22-23 日高エネルギー加速器研究機構:PF)第 1 回タンパク質X線溶液散乱講習会

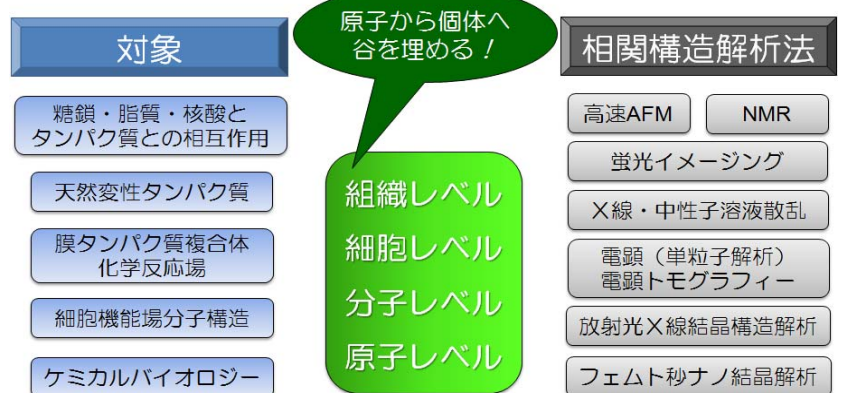


## 10. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1 ページ程度）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

タンパク質の構造・機能研究が始まって50年以上が経過した。そのスタートは分子生物学のセントラルドグマ(DNA → RNA → タンパク質)の提案であり、タンパク質の機能がその立体構造と密接に関係していることを示したのはポリペプチド鎖の自発的な折れ畳まりを提唱したAnfinsenである。これを契機にアミノ酸配列がタンパク質の立体構造を規定し、その立体構造がタンパク質の機能を規定するという構造生物学のセントラルドグマ(アミノ酸配列 → 立体構造 → 機能)が提唱され、タンパク質の立体構造の構築原理の解明がスタートした。このようにして構造生物学のセントラルドグマが実証されようとしたときに、「単独では変性状態にあって特定の高次構造を形成していないがターゲット分子と相互作用すると規則正しく折り畳まれる(結合と連結して折り畳まれる)」天然変性タンパク質が次々と発見されるようになり、従来の「鍵と鍵穴モデル」や「適合融合モデル」による分子認識の概念が当てはまらなくなってきた。したがって、天然変性タンパク質の発見はタンパク質科学の分野に大きな影響を与え、それはタンパク質科学のパラダイムシフトとなって今日に至っている。しかしながら、本学術領域研究がスタートしたときは依然として天然変性タンパク質の理解度は低く、特に構造生物学分野では「ディスオーダーしたタンパク質に機能なし」ということで、天然変性タンパク質に興味を持つ研究者が少なかった。それは、高次構造をもったタンパク質は結晶化され、X線結晶構造解析で原子レベルの詳細な構造情報が得られるのに対し、天然変性タンパク質は非常に多くの構造のアンサンブルとして存在するために結晶化が困難で、よって高分解能の構造情報が得られないことに大きく起因している。したがって、天然変性タンパク質及び天然変性領域含むタンパク質分子の立体構造解析は既存の手法では困難であり、大きな方法論上の障壁が存在するため、本研究の大きな柱としてX線・中性子溶液散乱法を中心した天然変性タンパク質の構造解析に適した新規構造解析法の開発を設定した。X線溶液散乱法はタンパク質の構造やその状態変化を解析する手法として古くから用いられてきたが、近年になり溶液散乱曲線から直接構造モデルを構築することができる解析手法が開発され、タンパク質複合体やマルチ・ドメインタンパク質の構造解析にきわめて有効な手段であることが示されていた。その意味で、天然変性タンパク質の発見は、タンパク質科学のパラダイムシフトに加えて、構造解析に大きな変化をもたらし、それは構造生命科学として「ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術(CREST/さきがけ)」(図参考)に繋がっている。この図を見れば、当該領域研究で実施してきたX線・中性子溶液散乱、NMR、高速AFMなどを関連させた構造解析(相関構造解析)が今後の生命科学研究にいかにも重要であるかが一目瞭然でわかる。したがって、2009年にスタートした当該領域研究の波及効果がこのようなCREST/さきがけ研究の「先駆け」になって、関連分野に大きなインパクトと波及効果をもたらしているのは明らかである。当該領域研究では多くの若手研究者が育ち、その多くが大学等の助教等に採用されたり、大型の研究費を獲得したり、学会賞を受賞したりして、多大な評価を受けている。今後は、こうして育った研究者を中心にして相関構造解析が行われ、生命科学の新学術領域「天然変性タンパク質研究」の新しい道を拓き、非常に複雑で高度な機能を発現する天然変性タンパク質を究めていくことを期待したい。

## 構造生命科学



若槻壮市：ライフサイエンスの革新を目指した構造生命科学と先端的基盤技術(CREST/さきがけ) @2012年4月を改編

科学と先端的基盤技術(CREST/さきがけ)」(図参考)に繋がっている。この図を見れば、当該領域研究で実施してきたX線・中性子溶液散乱、NMR、高速AFMなどを関連させた構造解析(相関構造解析)が今後の生命科学研究にいかにも重要であるかが一目瞭然でわかる。したがって、2009年にスタートした当該領域研究の波及効果がこのようなCREST/さきがけ研究の「先駆け」になって、関連分野に大きなインパクトと波及効果をもたらしているのは明らかである。当該領域研究では多くの若手研究者が育ち、その多くが大学等の助教等に採用されたり、大型の研究費を獲得したり、学会賞を受賞したりして、多大な評価を受けている。今後は、こうして育った研究者を中心にして相関構造解析が行われ、生命科学の新学術領域「天然変性タンパク質研究」の新しい道を拓き、非常に複雑で高度な機能を発現する天然変性タンパク質を究めていくことを期待したい。