

領域略称名：構造細胞生物学
領域番号：3212

平成27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

「細胞シグナリング複合体による
シグナル検知・伝達・応答の構造的基礎」

(領域設定期間)

平成22年度～平成26年度

平成27年6月

領域代表者 (奈良先端科学技術大学院大学・

バイオサイエンス研究科・教授・箱嶋敏雄)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	10
2. 研究領域の設定目的の達成度	12
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	15
4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況	16
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	18
6. 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）	22
7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況	27
8. 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）	29
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	33
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	35
11. 総括班評価者による評価	36

研究組織

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00	22121001 細胞シグナリング複合体によるシグナル検知・伝達・応答の構造的基礎	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	箱嶋 敏雄	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス・教授	14
A01	22121002 動物・植物細胞のシグナル検知と伝達の構造生物学	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	箱嶋 敏雄	奈良先端科学技術大学院大学・バイオサイエンス・教授	3
A01	22121003 小胞輸送の制御に関わる分子複合体群の X 線結晶構造解析	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	深井 周也	東京大学・放射光機構・准教授	3
A01	22121004 シグナル制御複合体の構造と細胞内局在の電子顕微鏡解析	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	佐藤 主税	産業技術総合研究所・グループリーダー	2
A02	22121005 クロマチンリモデリング制御複合体の構造と機能の解析	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	千田 俊哉	高エネ機構・物構研・教授	3
A02	22121006 核輸送関連の核内複合体の構造解析と放射光測定法の改良	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	山下 栄樹	大阪大学・蛋白研・助教	4
A03	22121007 生体防御に関わる細胞表面受容体のシグナル検知機構の解析	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	前仲 勝実	北海道大学・薬・教授	1
A03	22121008 シグナル抑制因子 CBL の分子複合体構造と病変変異の解析	平成 22 年度 ～ 平成 26 年度	稲垣 冬彦	北海道大学・先端生命科学・特任教授	1
計画研究 計 8 件					
A01 公	25121701 ヘムをシグナリング分子とする情報伝達システムの構造化的基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	石森 浩一郎	北海道大学・理・教授	1
A01 公	25121702 酸化ストレスセンサーと選択的蛋白質分解系によるシグナリング複合体の構造と機能	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	黒河 博文	東北大学・医・講師	1
A01 公	27121704 毛上皮形成における亜鉛シグナル伝達蛋白質	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	海野 昌喜	茨城大学・理工・教授	4

	群機能制御カスケードの構造生物学的解明				
A01 公	25121705 B I C Dによる微小管 依存的な逆行性輸送制 御の構造的基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	寺脇 慎一	群馬大学・理工・助教	1
A01 公	25121706 新奇Gサイクルの起動 制御に関わる構造生物 学的解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	堅田 利明	東京大学・薬・教授	4
A01 公	25121707 三量体G蛋白質による イオンチャネル活性化 シグナリングの構造基 盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	大澤 匡範	東京大学・薬・助教	4
A01 公	25121713 CRM1による核外輸 送：メカニズムから病 態までの構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	松浦 能行	名古屋大学・理・准教授	1
A01 公	25121714 構造情報を活用した細 胞質分裂の分子メカニ ズムの解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	石崎 敏理	大分大学・医・教授	1
A01 公	25121718 バクテリアべん毛蛋白 質輸送スイッチの分子 基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	南野 徹	大阪大学・生命機能・准教授	7
A01 公	25121719 天然変性タンパク質を ハブとするカルビン回 路高次複合体の構造解 析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	松村 浩由	大阪大学・工・准教授	1
A01 公	25121720 分子量約1000万の 巨大粒子ボルトの脂質 ラフト認識機構の解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	田中 秀明	大阪大学・蛋白研・准教授	1
A01 公	25121723 ナス科植物における自 他認識複合体の構造基 盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	村瀬 浩司	奈良先端科学技術大学院大学・バ イオサイエンス・助教	3
A01 公	25121724 Gタンパク質シグナル 複合体の解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	伊東 広	奈良先端科学技術大学院大学・バ イオサイエンス・教授	2
A01 公	25121726 植物の新規アクチン結 合ドメインとアクチン の複合体の結晶構造解 析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	嶋田 睦	九州大学・生医研・准教授	1
A01 公	25121730 糖タンパク質選別輸送 装置の超分子形成およ び作動機構の解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	佐藤 匡史	名古屋市立大学・薬・准教授	2

A01 公	25121731 D I XドメインをコアとするW n tシグナル伝達系複合体群の構造生物学	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	柴田 直樹	兵庫県立大学・生命理学・准教授	2
A01 公	25121734 T o b 蛋白質を介するC C R 4-N O Tデアデニレース作用の分子構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	山本 雅	沖縄科学技術大学院大学・教授	1
A01 公	25121737 翻訳開始因子e I F 2 Bの機能発現の構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	伊藤 拓宏	理化学研究所・ユニットリーダー	1
A01 公	25121738 脂質修飾蛋白質の輸送に関わるp 2 4蛋白質複合体の構造基盤の解明	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	長江 雅倫	理化学研究所・研究員	1
A01 公	25121739 病原微生物におけるヘム獲得システムの構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	杉本 宏	理化学研究所・研究員	7
A01 公	25121742 S e c D Fのタンパク質膜透過促進機構に関する電子顕微鏡構造解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	三尾 和弘	産業技術総合研究所・主任研究員	2
A01 公	25121743 X線結晶構造解析・核磁気共鳴法の融合によるキナーゼ複合体の動的立体構造解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	竹内 恒	産業技術総合研究所・主任研究員	1
A01 公	25121746 枯草菌一般ストレス応答システムの構造と機能の解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	熊坂 崇	高輝度光科学研究センター・副主席研究員	2
A01 公	23121501 ヘムをシグナリング分子とする情報伝達システムの構造化学的基盤	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	石森 浩一郎	北海道大学・理・教授	1
A01 公	23121502 酸化ストレスセンサーK e a p 1と選択的蛋白質分解系による新規シグナリング複合体	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	黒河 博文	東北大学・医・講師	1
A01 公	23121504 ヒト毛髪内亜鉛・カルシウム恒常性維持のための分子構造変換機構の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	海野 昌喜	茨城大学・准教授	3

A01 公	23121505 新奇Gサイクルの起 動制御に関わる構造 生物学的解析	平成23年度 ～ 平成24年度	堅田 利明	東京大学・薬・教授	5
A01 公	23121507 神経細胞の移動を制 御する因子 s r G A P の立体構造決定と 機能解析	平成23年度 ～ 平成24年度	伊藤 弓弦	東京大学・分生研・助教	1
A01 公	23121513 無脊椎動物ロドプシ ンの光活性化機構の 解明	平成23年度 ～ 平成24年度	村上 緑	名古屋大学・理・助教	1
A01 公	23121514 細胞質分裂における R h o シグナル伝達 分子複合体の構造お よび機能解析	平成23年度 ～ 平成24年度	石崎 敏理	京都大学・医・准教授	1
A01 公	23121516 バクテリアべん毛フ ック完成シグナリン グ複合体の機能構造 解析	平成23年度 ～ 平成24年度	南野 徹	大阪大学・生命機能・准教授	7
A01 公	23121517 分子量約1000万 の巨大粒子ボルトの 脂質ラフト認識機構 の解明	平成23年度 ～ 平成24年度	田中 秀明	大阪大学・蛋白研・助教	1
A01 公	23121518 M A P K および m T O R 経路の足場とな る p 1 8 複合体の構 造解析	平成23年度 ～ 平成24年度	岡田 雅人	大阪大学・微研・教授	3
A01 公	23121519 カルビンサイクル調 節システムの構造基 盤	平成23年度 ～ 平成24年度	松村 浩由	大阪大学・工・准教授	1
A01 公	23121522 Gタンパク質シグナ ル複合体の解析	平成23年度 ～ 平成24年度	伊東 広	奈良先端科学技術大学院大学・バ イオサイエンス・教授	1
A01 公	23121526 W n t 受容体共役タ ンパク質ー細胞内W n t シグナル伝達因 子複合体群の構造生 物学	平成23年度 ～ 平成24年度	柴田 直樹	兵庫県立大学・生命理学・准教授	2
A01 公	23121527 B I C D による微小 管依存的な物質輸送 制御の構造的基盤	平成23年度 ～ 平成24年度	寺脇 慎一	群馬大学・工・助教	1
A01 公	23121531 病原微生物における ヘムシグナリング複	平成23年度 ～ 平成24年度	杉本 宏	理化学研究所・研究員	4

	合体の構造学的研究				
A01 公	23121532 G P I アンカー型タンパク質の輸送シグナルの提示と検知の構造生物学	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	佐藤 匡史	名古屋市立大学・薬・准教授	1
A01 公	23121537 枯草菌一般ストレス応答システムの構造生物学	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	熊坂 崇	高輝度光科学研究センター・副主席研究員	2
A02 公	25121715 クロマチン・リモデリング NuRD 複合体形成の構造基盤	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	有吉 眞理子	京都大学・工・研究員	2
A02 公	25121722 水素重水素交換質量分析によるタンパク質間相互作用解析の高速・高分解能化	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	内山 進	大阪大学・工・准教授	3
A02 公	25121728 修復・転写・細胞周期に関わる M a d 2 L 2 シグナリング複合体の構造生物学	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	橋本 博	静岡県立大学・薬・教授	1
A02 公	25121735 脊椎動物キネトコア複合体の構造細胞生物学	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	西野 達哉	国立遺伝学研究所・助教	1
A02 公	25121736 D N A 複製開始調節に関与する S 1 d 3 - S 1 d 7 複合体の構造生物学的研究	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	伊藤 啓	国立遺伝学研究所・助教	2
A02 公	25121740 ヒストンメチル化酵素複合体の構造解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	仙石 徹	理化学研究所・研究員	1
A02 公	25121741 S M C 蛋白質複合体の反応中間体の分子認識	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	鎌田 勝彦	理化学研究所・研究員	1
A02 公	25121744 C R I S P R システムにおけるエフェクター複合体の構造機能解析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	沼田 倫征	産業総合技術研究所・研究員	2
A02 公	23121508 リコンビナーゼとその活性化因子との複合体構造を通じた鎖交換反応の構造基盤の確立	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	清水 敏之	東京大学・薬・教授	1

A02 公	23121506 T o b 蛋白質による C C R 4 - N O T 脱 アデニル化酵素複合 体の形成と機能の制 御	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	山本 雅	東京大学・医科研・教授	1
A02 公	23121524 生殖細胞の形成を制 御する N a n o s / P u m i l i o / m R N A 複合体の構造 解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	橋本 博	横浜市立大学・生命ナノシステ ム・助教	1
A02 公	23121535 C R I S P R システ ムにおける A G O 2 様活性を有する R N P 複合体の構造機能 解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	沼田 倫征	産業技術総合研究所・研究員	2
A02 公	23121512 C 型肝炎ウイルス蛋 白質 N S 5 A とヒト 宿主因子 F K B P 8 の複合体の構造生物 学	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	楠木 正巳	山梨大学・医・教授	1
A02 公	23121521 H / D 交換質量分析 法によるタンパク質 間相互作用・構造変化 部位の決定	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	内山 進	大阪大学・工・助教	4
A02 公	23121530 脊椎動物キネトコア 複合体 C E N P - H I K L M N の構造細 胞生物学	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	西野 達哉	国立遺伝学研究所・助教	1
A02 公	23121534 染色体構築に關与す る蛋白質複合体の制 御機構の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	鎌田 勝彦	理化学研究所・研究員	1
A02 公	23121528 急性骨髄性白血病の 原因タンパク質 A M L 1 と R N A アプタ マーの複合体の構造 解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	坂本 泰一	千葉工業大学・工・准教授	2
A02 公	2312538 ファージの重複感染シ グナルがもたらす溶菌 阻止現象の分子メカニ ズムの解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	金丸 周司	東京工業大学・生命理工・助教	1
A03 公	25121703 癌転移抑制因子 R a 1 G A P 複合体の構造解 析	平成 25 年度 ～ 平成 26 年度	白川 龍太郎	東北大学・加齢研・助教	2

A03 公	25121708 医学上重要なGPCR のシグナル制御機構の 構造生物学的解明	平成25年度 ～ 平成26年度	上田 卓見	東京大学・薬・助教	2
A03 公	25121709 自然免疫系受容体による 病原体認識機構の解明	平成25年度 ～ 平成26年度	大戸 梅治	東京大学・薬・講師	1
A03 公	25121710 GluR δ 2-Cbl1 -NRXN複合体 によるシナプス形成機 構の構造基盤の解明	平成25年度 ～ 平成26年度	植村 健	信州大学・医・准教授	2
A03 公	25121711 細菌病原因子と宿主標 的蛋白質の相互作用基 盤	平成25年度 ～ 平成26年度	Kim Mi nsoo	東京大学・医科研・准教授	2
A03 公	25121716 複合体解析によるKA TPチャンネル制御機構 解明	平成25年度 ～ 平成26年度	木村 泰久	京都大学・農・助教	1
A03 公	25121717 パストレラ毒素による ヘテロ3量体Gタンパ ク質のシグナル伝達活 性化機構の構造的基盤	平成25年度 ～ 平成26年度	北所 健悟	京都工芸繊維大学・工芸科学・准 教授	1
A03 公	25121727 T細胞制御機構の構造 生物学的基盤	平成25年度 ～ 平成26年度	池水 信二	熊本大学・生命科学・准教授	1
A03 公	25121729 セマフォリンシグナル の応答・伝達機構の解 明に向けた受容体細胞 外領域全長の構造解析	平成25年度 ～ 平成26年度	禾 晃和	横浜市立大学・生命医科学・准教 授	2
A03 公	25121733 複合体構造解析による 細菌毒素の標的結合タ ンパク質認識機構の解 明	平成25年度 ～ 平成26年度	津下 英明	京都産業大学・総合生命科学・教 授	3
A03 公	25121745 止血血栓形成に関わる 複合体プロテアーゼの 構造生物学的研究	平成25年度 ～ 平成26年度	武田 壮一	国立循環器病研究センター・室長	1
A03 公	25121747 クロトーの、グルクロ ン酸糖鎖およびFGF 23との複合体として の構造解析	平成25年度 ～ 平成26年度	前田 良太	先端医療振興財団・主任研究員	1
A03 公	23121503 RalGAP複合体 の構造機能解析	平成23年度 ～ 平成24年度	白川 龍太郎	東北大学・加齢研・助教	2

A03 公	23121509 シナプス形成におけるG l u R δ 2 - C b l n 1 - N R X N 三者複合体の構造学的解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	植村 健	東京大学・医・助教	2
A03 公	23121510 自然免疫系受容体によるリガンド認識とシグナル伝達の構造的基盤	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	大戸 梅治	東京大学・薬・助教	1
A03 公	23121511 G P C R のシグナル伝達機構の構造生物学的解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	上田 卓見	東京大学・薬・助教	2
A03 公	23121520 多種多様な疾患に関わるセマフォリンシグナルの応答・伝達機構の構造生物学的解析	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	禾 晃和	横浜市立大学・生命ナノシステム・准教授	1
A03 公	23121523 炎症性サイトカインと受容体の構造生物学的認識機構の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	池水 信二	熊本大学・生命科学・准教授	1
A03 公	23121525 26Sプロテアソーム複合体構造解析による超分子作動機構に関する研究	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	水島 恒裕	兵庫県立大学・生命理学・教授	3
A03 公	23121533 K i r 3 チャンネルの研究	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	西田 元彦	理化学研究所・研究員	1
A03 公	23121536 高分子量プロテアーゼを介した細胞外シグナリングの構造生物学的研究	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	武田 壮一	国立循環器病研究センター・室長	1
A03 公	23121515 毒素タンパク質のシグナル伝達活性化メカニズムの構造的基盤	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	北所 健悟	京都工芸繊維大学・工学科学・准教授	1
A03 公	23121529 複合体構造解析によるADPリボシル化毒素の標的タンパク質認識機構の解明	平成 23 年度 ～ 平成 24 年度	津下 英明	京都産業大学・総合生命科学・教授	3

公募研究 計 81 件

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、応募時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。

応募領域の研究概要のまとめ

「タンパク質の三次元構造解析法の革新を背景に構造生物学は生物学・医学等に大きく貢献している。しかし、タンパク質が機能する現場を分子複合体（細胞シグナリング複合体）としてとらえる解析は、詳細な構造情報が得られる最重要課題でありながら、種々の困難から成功例に限られる。本申請では、複合体研究の基盤技術と戦略を整備するとともに、我が国の優れた構造解析技術を駆使して、重要な細胞機能の制御タンパク質群の形成する分子複合体に焦点を絞った構造研究領域を推進する。これにより、相互作用の特異性と分子機能の制御機構を原子分解能で解明して、構造的側面から分子に立脚した生命科学の水準を世界トップレベルへと底上げする。」

具体的には、以下の3つの方向（研究項目）で研究を推進する。

- A01 細胞内シグナルの検知と伝達の構造生物学
- A02 核内シグナルの認識と応答の構造生物学
- A03 医学上重要な分子複合体研究の構造生物学

① 【どのような点が我が国の学術水準の向上・強化につながる新たな研究領域であるか】

タンパク質の三次元構造解析法の革新を背景に、構造生物学は、生命科学に大きく貢献するようになった。しかし、細胞シグナルの複雑な伝達経路で、シグナルの検出・伝達・応答を担うタンパク質が形成する分子複合体「細胞シグナリング複合体」の構造解析は、構造生物学の最重要課題と認識されているが、種々の困難から成功例に限られている。そこで、本申請研究領域では、分子複合体の構造研究で実績のある研究者が中心となって、複合体構造研究の基盤技術と戦略を整備するとともに、世界に冠たる我が国の構造解析技術を駆使して、「タンパク質群が機能している現場の構造を捉える」分子複合体の高分解能の三次元構造を決定して、高次の生命現象を支える重要な細胞シグナルを制御するタンパク質の相互作用の特異性と機能制御のメカニズムの詳細を原子分解能で解明する。この精度の高い構造決定では、他の研究手段ではブラックボックスとして残された分子機能のメカニズムの詳細や、高次の多重制御の理解につながるシグナル間の協同性や干渉性を、構造の特性やアロステリック効果等の具体的な分子の実体として定量的に理解することが可能となる。

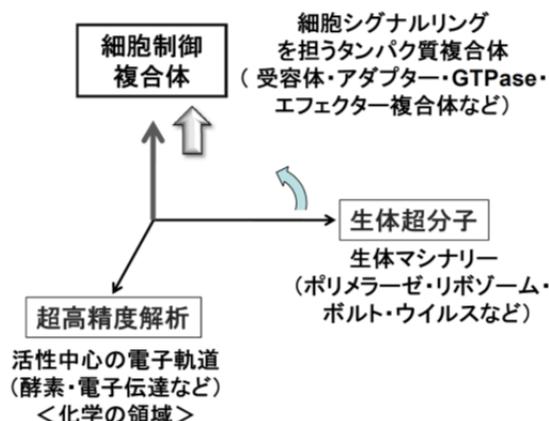


図1. 構造生物学の進展と解析対象拡大

② 【学術的背景】

生命科学には、タンパク質の三次元構造に基づいた議論が決定的な意味をもつ局面がある。それ故、英国 Max Perutz (1962 年 Nobel 賞受賞) 以来、実に 16 人 (2010 年時点) の構造生物学者に Nobel 賞が授与されている。この間の構造生物学の躍進には大別して 3 つの方向がある (図 1)。構造生物学は、**分子生物学**の基本超分子 (ポリメラーゼやリボソーム) や**生化学**研究の進んだ重要酵素類 (ATPase 等) の構造研究として開花したが、我が国では、SPring-8 等の世界に冠たるシンクロトロン放射光施設を背景に、分子質量メガダルトンオーダーにも及ぶ「生体超分子」の構造決定にも成功しており、世界のトップレベルに達している。一方、爆発的な発展を遂げている**分子細胞生物学**やその周辺領域では、複数のタンパク質群が複合体を形成して、細胞シグナルの検出・伝達・応答を制御しているが、この「細胞シグナリング複合

体」の構造解析は、タンパク質-タンパク質、タンパク質-リガンド相互作用についての詳細な情報を獲得できる最重要課題でありながら、種々の困難から、成功例は限られている。このような背景のもとに、タンパク質複合体の構造研究で実績のある研究者が中心となって、高次な生命現象の理解に繋がる重要なタンパク質群の特異的な分子間相互作用の詳細を、細胞シグナリング複合体の精密な三次元構造に基づいて、実証的に解明する研究領域を提案する。

③ 【世界の構造生物学の潮流と現状分析】

最初のタンパク質の三次元構造が決定（1958年）されて以来50余年が経過しているが、この間に構造研究の隆盛には大きな波が2回あった。**第一の波**は1980年代までの緩やかな波で、X線結晶構造解析法が先進国に浸透することで研究者数と解析成果が急増して「構造生物学」という言葉が出現した。**第二の波**はシンクロトロン放射X線・新しい構造解析理論・そして高速コンピュータの出現とともに起きて、1990年代にはポリメラーゼ・リボゾーム等の構造解析で構造生物学は隆盛を極めた。その後網羅的な解析が重要との考え方が2000年前後には一時的に流行して幾つかの技術的な前進はあったが、残念ながら構造の学術的インパクトに問題があり、ここで構造生物学の波は沈静化したかに見えたが、しかし2000年後半から強烈な学術的インパクトをもつ構造生物学の論文が再び毎週のように発表されるようになった。この**構造生物学の第三の波**は分子細胞生物学などの分子レベルの生命科学が拡大して重要な機能をもつタンパク質群が次々に単離されるようになったことが背景にあり、様々な生命現象を支えるこれらの**重要タンパク質群の形成する分子複合体の構造解析**が、困難ではあるが、挑戦できる時代に突入したのである。このような構造生物学の世界的、歴史的動向と現状分析に立って本研究領域を提案する。

④ 【全体構想と研究戦略：研究をどのように推進していくのか】

本領域では、まず、**進展の著しい分子細胞生物学**に注目して、細胞シグナルの制御タンパク質やその複合体が、標的分子との特異的な相互作用を通して形成する分子複合体の三次元構造を決定して、細胞シグナルの検知と伝達の機構を解析する（研究項目 A01）。一方、細胞核内では、様々なシグナルの制御下において、クロマチン等の高次の構造レベルの変化を通して、転写等の基礎過程がダイナミックに制御されている。これらの過程の複合体を標的とする（研究項目 A02）。以上の基礎研究に力点を置いた研究項目に加えて、医学的な視点から重要な分子複合体に注目して、構造生物学的観点からの展開を図る（研究項目 A03）。実際には、研究項目 A03 は、A01 あるいは A02 とクロスオーバーしており、基礎と応用（より医学）という視点の差異はあるが、新しい複合体構造研究として、一体となって研究を推進していく。

困難な分子複合体の構造解析を現するためには、構造解析の方法論や多様な相互作用解析の技術を集結して様々な困難を克服する必要がある。そこで、**計画研究**は、X線結晶構造解析を方法論の主力としてその専門家（箱嶋・千田・深井）、電子顕微鏡法（佐藤）とNMR法（稲垣・三島）の専門家で構成した。また、放射光施設の強力なシンクロトロン放射X線の利用が不可欠なので、タンパク質の構造解析専用放射光ビームライン（SPring-8 BL44XU）の担当者（山下）を加えた。分子複合体の調製では、タンパク質精製等の生化学の技量や、生物物理学的な分子間の相互作用解析に基づいた分子複合体の安定な形成条件の探索が必須である。そこで、タンパク質化学・生化学の専門家（前仲）を配すと同時に、機器分析による相互作用解析に実績のある箱嶋・稲垣がアドバイスにあたることとした。このように、上記の研究項目A01、02、03を**縦糸**とするのに対して、構造生物学の基盤技術や手法（X線結晶構造解析、シンクロトロン放射光、電顕、NMR、物性・相互作用解析、タンパク質工学・組み替えタンパク質生成技術等）の連携や共有を**横糸**として研究を推進する体制とする。一方、**公募研究**では、**細胞生物学・植物学・医学等の広い生命科学分野**に渡って重要なタンパク質群の研究を募って、複合体構造解析に必要な種々の技術と「know-how」をもつ計画研究の班員との連携の下に、生物学的な機能解析から細胞を制御する「機能複合体」の構造研究へと止揚することを企図した。また、複合体の調製や構造解析に新しい技術や新規で効な考え方をもつ研究提案を募るとともに、若い研究者の挑戦的提案も採択して、分子複合体に焦点を絞った構造研究の**人材育成**でも成果を挙げることを意図した。

2. 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ごとの状況も記述してください。

計画研究では、各研究代表者がそれぞれ複数のシグナリング複合体を、また、公募研究でも各研究代表者がそれぞれ2-3のシグナリング複合体を標的として、それらの構造決定と分子機能解明を進めた。これらの中には困難な、あるいは、極めて困難な課題もあった。しかし、領域代表者として、総括班評価者の賛同を得ながら、目先の成果にこだわらず、更にチャレンジングな課題を奨励し続けた。結果としては、予想以上の多くの複合体の構造が解明されて、極めてインパクトの高い成果が蓄積していった。それと同時に、更に、次の5年、10年先まで続けられる極めて困難ではあるが、大きな成果に繋がる重要な課題にも前進があったことは、本当の意味の「新学術」の芽を枯らさず育てられたと思っている。

研究項目 A01 細胞内シグナルの検知と伝達の構造生物学

計画研究1では、動物細胞での運動制御タンパク質や力学センサー関連タンパク質、あるいは植物ホルモンのシグナリングタンパク質の構造解析で設定以上の成果が得られた（箱嶋）。細胞運動では、葉状仮足を発達させる RacGEF の Tiam1 の活性化に必要な新たな膜・膜タンパク質相互作用ドメインである PHCCEx ドメインの構造を決定し、接着分子 CD44 や Ephrin あるいは PAR3 などが持つ酸性ペプチドとの相互作用機構を明らかにした。また、遊走因子受容体の細胞表面への輸送を介して糸状仮足を発達させる myosin-X の積荷認識ドメイン (MyTH4-FERM) と DCC (軸索誘導因子の一つ netrin の受容体) との複合体構造により、DCC との相互作用機構を明らかにした。力学的応答では、細胞間の接着結合 (adherence junction) で力学センサーとしてはたらく α -catenin の自己阻害状態および vincurin 結合状態の高分解能構造を決定し、張力応答の分子機構を原子レベルで解明した。植物ホルモンシグナリングでは、茎の枝分かれを抑制する植物ホルモンであるストリゴラクトン (SL) やカリキン (KAR) の受容体候補 D14、D14L の構造を決定し、それぞれが SL、KAR に特異的に結合することを証明した。これらの成果に加えて、医学的に重要な複合体 (三量体 G タンパク質と阻害剤との複合体、神経線維症種 II の原因タンパク質の複合体、サリドマイドの標的タンパク質 cereblon とサリドマイド誘導體薬剤との複合体など) の構造研究でも大きな成果を上げた。

計画研究2の小胞輸送関連では、タンパク質の膜埋め込みを触媒する GET 複合体や膜融合を制御する Exocyst 複合体の構造解析で一定の成果が得られた（深井）。GET 複合体で中心的な役割を担う ATPase である GET3 単独および ADP 結合状態の二量体構造を決定し、その構造変化が機能に重要であることを示した。さらに、GET1 (GET3 受容体) の GET3 結合領域と GET3 二量体との複合体の構造決定により、GET1 が GET3 二量体の開状態を安定化することにより埋め込みを促進することを提案した。Exocyst 複合体では、Sec6 サブユニットのホモログである M-Sec の構造決定を行い、Ral や PI(4,5)P₂ と相互作用して tunneling nanotube と呼ばれる膜構造を誘導する分子機構を示した。GET 複合体全体や Exocyst 複合体全体、あるいは、脂質修飾を含む膜タンパク質複合体 (GDF 複合体) の構造解析という挑戦的な目標設定であったが、構造解析に向けた発現系の構築や結晶化で着実に進展して、問題点の洗い出し等で次のステップに繋がられた。また、公募班 (A03 植村) との共同研究によるシナプス誘導受容体複合体の構造解析で重要な成果が得られた。

計画研究3の電顕による単粒子解析では、解析の効率化や高精度化が達成されるとともに、複数の共同研究が行われて、特に、イオンチャネルや巨大な酸化ストレスセンサー Keep1 や微小管構造変化の解析等で成果を上げた。多くの研究班員の電顕での解析のアドバイザーとしての当初計画の役割を果たした。また、独自の ASEM (大気圧走査電子顕微鏡) を用いた結晶化への応用も進んだ (佐藤主税)。

この研究項目では、平成23-24年度に18の課題、平成25-26年度に22の課題の公募研究が採択されており、GTPase、細胞内輸送、ストレスセンサー、ヘムシグナリング、神経科学や植物科学関連等の幅広いシグナル伝達経路での複合体が俎上に載り、細胞生物学や分子生物学など構造生物学以外を専門とする研究者も数多く参画した。計画班員との共同研究も含んだ構造解析が多く進展し、そのいくつかは論文として発表

されており、さらなる発展が期待できる。また、翻訳開始因子複合体などの挑戦的な複合体の構造決定にも成功した。

研究項目A02 核内シグナルの認識と応答の構造生物学

計画研究4では、転写・複製に関わるヒストンシャペロンの研究を推進しており、複製および転写と連動したヌクレオソーム構造変換のメカニズムを理解するために、高分子量型のヒストンシャペロンであるHIRAやCAF-Iの構造決定に向けた研究に取り組んできた。これらは、ヌクレオソーム構造の変換を通じてエピジェネティック情報の制御にも関わるために、極めて重要度な複合体であるにもかかわらず、その取り扱いの難しさから構造的な情報が（部分的な構造を除き）得られてない。本計画研究においては、全体構造の解明を目指してヒトのCAF-I (h CAF-I) の昆虫細胞による発現を目指してきた。その結果、h CAF-I (p150, p60, p48の複合体) に関しては昆虫細胞による複合体の精製に成功したが、p60サブユニットが極めて乖離しやすいことが生化学的な解析から明らかになり、構造解析には不向きであることがわかってきた。また、HIRAに関しては、全長のタンパク質について大腸菌発現系・昆虫細胞発現系における発現と精製を試みたものの、全長タンパク質は大腸菌の内在性のDNAと非特異的に結合し、可溶性の凝集体を形成する傾向が強く、結晶化に必要なタンパク質を精製することは困難であった。これは、HIRAがDNAを標的として機能しているという報告と矛盾しない。このように、不安定な巨大複合体を解析対象として選んだ場合、発現精製の困難さに加え、精製できた複合体が必ずしも物理化学的に構造解析にふさわしい性質を持っていないことが明らかになってきた。これらの困難さは高等な生物の複合体になればなるほど顕著であるように思われたので、基本的な部分はヒトと共通点を持つと考えられる酵母を利用して、タグ技術により複合体を精製する技術の確立に力を注ぎ、CAF-I, TFIID, CPSFを始めとする核内の複合体を例として、大量培養した酵母からタグ技術を使って精製するパイプラインの構築を目指した。その結果、安価かつ簡便に酵母の大量培養を行う方法論を確立し、タグを使って複合体を比較的容易に精製する方法を確立することができた。例えば、酵母由来のCAF-I (y CAF-I) は、40 L培養の酵母から比較的安定な複合体として高度に精製することに成功し、この試料を用いて、負染色による電子顕微鏡像を得ている。さらに、得られた画像を解析した結果、試験的にではあるがy CAF-I複合体の単粒子像を得ることに成功している。これらの結果は、今回確立した内在性複合体の大量精製パイプラインが、電子顕微鏡や結晶構造解析による高次構造解析を推進する目的に十分使えるものであり、近年進歩が目覚ましい電子顕微鏡技術と組み合わせることで高難度複合体の高次元構造解明への展開を踏み出せる地点まで来た（千田）。

計画研究5の核内輸送関連では、インポーチン、エクスポーチンの各種複合体の結晶構造解析に成功している。様々な状態の複合体構造の結晶構造解析を行うことで、単一構造の解析だけではわからないような分子間認識の原子分解能レベルのメカニズムが解明されつつある。方法論の開発においては、放射光ビームラインBL44XUのマイクロビーム化に対応した測定系の構築を行ってきた。高速高精度の試料回転装置の設置、振動対策によるビームの安定化による微小結晶から安定して回折データの測定をすることを可能にした。このビームラインを用いて、20 μm 以下の結晶を用いた位相決定に成功するだけでなく、タンパク質内の金属原子の同定を放射光の波長可変性を利用して決定するなど、ビームライン開発の有効性を実証している（山下）。

公募研究では、mRNAプロセッシング、microRNA、RNAアプタマー、あるいは染色体関連等の課題の研究が加わり、生物学的現象の幅が広がった。これらは、独自の系を発展させてきた研究が多いが、国際的な厳しい競争下にある課題も幾つか有る。そのような状況下で、CENP関連の構造研究が*Cell*等に掲載されたのは朗報である（西野）。核内の複合体に関しては調製が困難なものが多く、短期的な研究では成果を期待することができないが、各班員の粘り強い基礎的な努力により構造解析への道が開けつつある（NuRD複合体、有吉）。また、質量分析技術の応用による複合体研究への貢献や（内山）、低エネルギーSAD法による位相決定（橋本）など、新しい技術の利用が広がったことは重要である。また、決定した構造に基づいて、生物学的な実験を展開することも一般的になり、構造生物学を細胞構造生物学へと発展させることができたと考えている。

研究項目A03 医学上重要な分子複合体研究の構造生物学

医学的な視点から重要な分子複合体に注目して、構造生物学的観点からの展開を図ることを目標とした。

計画研究6では、細胞表面の受容体とガン細胞や病原体などの非自己抗原との複合体（前伸）や、計画研究7では、自己免疫疾患、急性骨髄性白血病等の病因の一つであるチロシンキナーゼ類のユビキチン化E3酵素（CBL）の形成する複合体（稲垣）の構造を決定して、活性制御機構を解明することを目指した。前者では、麻疹ウイルス感染時のウイルスタンパク質とその受容体との複合体構造により、ウイルスのトロピズムの構造基盤を決定できた。同時にワクチンの有効性を説明することにも成功した。さらに、免疫系受容体群では特徴的な結核菌由来免疫賦活化物質である糖脂質を認識する受容体MincleとMCLの構造決定に成功し、C型レクチンでは初となる糖脂質認識機構を明らかにした。その他の受容体LLT1やCD160についても構造基盤解明に進展があった。これらはいずれも医薬品開発で最近重要視されている免疫チェックポイントに関与する可能性の高い受容体群である。いくつかの受容体については、立体構造情報を基盤とするインシリコスクリーニングにも取り組み、活性のある化合物を得るところまで進展した。他方、後者では、一群のチロシンキナーゼのユビキチン化を制御するCBLや、オートファジー関連分子の活性化機構が構造レベルで解明された。*Nature*姉妹紙にレビュー記事として取り上げられる成果である。方法論の側面から、タンパク質試料発現系や膜タンパク質可溶化の新技术導入等で、多くの班員と連携して本領域の研究活性化に寄与している。また、ピロリ菌感染による発がんタンパク質CagAの構造決定の成果があった（千田）。

公募研究は平成23-24年度に11課題、平成25-26年度に12の課題の公募研究が採択されており、ユビキチン-プロテアソーム系、炎症サイトカイン、Gプロテイン共役受容体（GPCR）、チャネル・トランスポーター膜タンパク質、毒素タンパク質、26Sプロテアソーム等巨大複合体等のチャレンジングな研究も含まれる。赤痢菌エフェクタータンパク質Osp1の構造解析は、生化学的解析とともに、これがE2の脱アミド化酵素である証明として、*Nature*に掲載された（水島）。さらに、世界的な競争の激しい自然免疫のToll様受容体（TLR）について、エンドトキシンを認識するTLR4に加え、核酸分子を認識するTLR8、TLR9と立て続けに構造決定に成功し、*Nature*（2015）や*Science*（2013）など世界をリードするインパクトのある成果となった（大戸）。GPCRの活性化機構をナノディスクの手法を用いたNMR解析により時間軸とともに動的構造変化追跡に成功し、これまでのX線結晶構造解析で決定されてきたスナップショットを繋ぐ重要な成果となった（上田）。

上述の課題の全般を通して、各班員の構造解析の成功例を全員で検証して、タンパク質複合体の調製におけるタンパク質化学的手法や、相互作用の物理化学的解析と構造解析の最適化を図り、困難な点の多い分子複合体の構造解析の基盤技術や戦略を構築することを達成することができた。これを広く情報交換するとともに一般研究者への啓蒙やディスカッションも促進する目的で方法論の連絡会を立ち上げて、複合体研究の問題を解決する方法論・技術論を集約して、最終的にはプロトコール集として出版することで、第三の波の本流を形成したいとの目標は十分に達成できたと言える。毎年継続した連絡会を行い、上述のように多様で新規な手法や、それらの組み合わせを開発してきたが、これを英語の教科書として出版を予定し、現在編集中である（”*Advanced Methods in Structural Biology*” (eds T. Senda & K. Maenaka, Springer, 2015)）。

また、海外の研究者と、世界初の”*Structural Plant Biology*”と銘打ったmonograph（2-3冊の構成）あるいはtextbookを、同じくSpringerから出版する準備をしている（箱嶋）。

3. 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。

本領域のメインターゲットであるシグナル伝達複合体の結晶構造解析において、特に不安定な複合体に関しては、複合体のすべての構成要素を含むような結晶が取れず、予想された通り多くの対象で困難に直面した。これに対して、X線結晶構造解析では、標的タンパク質の発現・精製、結晶化に向けた安定化、結晶化および回折実験の条件検討、低分解能データの取り扱いの各段階での丹念な検討と新たな手法の組み合わせが重要となった。第一には、タンパク質の発現系として、ヒトHEK293GnTI細胞とカイコ個体の発現系（前仲・北大）は高等動物由来タンパク質の難発現のケースに非常に有効であり、多くの共同研究と成果を上げており、本邦で多くの研究者が取り組むスタンダードな手法となってきた。また、大戸・東大は、ショウジョウバエ細胞を用いた発現系により創薬の重要なターゲットであり、国際競争の激しいToll様受容体4種類の構造解析に成功して、世界をリードする成果を挙げた。さらに、前田・先端医療振興財団が新たに開発したIR/MAR法による哺乳動物高発現系は構造解析に適用できる手法であり、今後が注目される。また、木村・京大が開発したヒト培養細胞を用いたKチャンネルの大量発現系は、ヒト膜タンパク質研究のプラットフォームとしての期待も出てきた。

次に、リガンドとの結合が弱い複合体を安定的に調製する手法として、リガンドとの共発現、遺伝子工学による一本鎖化を含めた変異導入、糖鎖修飾等の翻訳後修飾の調整を幅広く行うことなど、発現系を含めた基準となる戦略が確立できてきたと言える。膜タンパク質の安定化については、稲垣・北大や上田・東大らがNMR解析に利用できるナノディスクの手法が有効であり、難易度の高いGPCR等の解析に成功し、著しい成果を挙げている。今後の幅広い物理化学的解析も含めた応用が期待できる。さらに、結晶化では、熊坂・理研が通常法で凍結が困難な結晶を凍結するために抗凍剤の浸透効率を高圧化で行うHAG法（新規結晶マウント技術）を開発し、巨大分子Voultの結晶解析に成功した。

回折実験に関しては、千田・高エネ機構および山下・阪大（SPring8 BL44XU）がビームラインにおいて結晶の評価を迅速に行えるように、ロボット化と最新検出器の導入、さらにはビームラインの高度化（ビーム強度上昇とシャッターレス測定等）により、格段にデータ測定の時間と質が向上し、スループットをあげることに成功した。これにより本領域の班員の構造解析のスピードが上がると同時に、これまで回折実験が難しかった脆いまたは微小結晶等についてもデータ収集が可能となり、チャレンジングなテーマの成功にも繋がっている。

これらの工夫に加えて、現状の低分解能の回折データから構造情報を引き出す努力も必要である。計算科学の専門家と連携することで、弱い電子密度に対して既知の構造を当てはめる計算手法や、低分解能構造解析と構造予測を組み合わせ、より信頼度の高いモデルを構築する手法の検討に取り組んでいる。深井・東大と稲垣・北大が連携して、X線の低分解能データの取り扱いや解析限界の大きなタンパク質や動きのあるタンパク質に対するNMR解析について、蛋白質科学会でワークショップを開くなどの啓蒙をしている。他方、結晶化を必要としない電子顕微鏡による単粒子解析の著しい発展を取り込む流れが浸透し、佐藤および三尾・産総研グループが二次元平均化において信頼性の高い評価指標を導入するなどによる単粒子解析の自動化を進めて、本領域内で相当数の共同研究へと発展している。また、内山・阪大の開発した水素-重水素交換を利用した質量分析による相互作用領域の同定手法は、複合体の構造基盤に重要な知見を与えるものである。NMRによる相互作用解析では問題となる分子量限界も無いので、今後汎用性が高まることでスタンダードな手法になることが期待できる。

細胞内シグナル伝達複合体はそれぞれのターゲットにより最適の解決法が異なり、各論となりがちであるが、本領域で多様かつ十分な引き出しが構築できつつあると感じる。これを有効に行うためには、多岐にわたる様々な手法を情報交換し合うことが重要である。この点においてもこの領域の推進の重要な意義がある。これをさらに広く展開するため、発足当初から方法論や技術の話題を取り上げた公開シンポジウムや討論会を行ってきており、毎回立ち見が出るほどの盛況であった。このように、公募研究によって生物学的な守備範囲が広がって、結晶化や構造解析技術以外の、より生物学的な技術や手法に関するアドバイス等も得られるような良い「研究コミュニティー」の形成により、有効な対応ができた。

4. 審査結果の所見及び中間評価で指摘を受けた事項への対応状況（2 ページ程度）

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

中間評価は A+ で、特に大きな変更等をとまなう改善点の指摘はなかった。

<中間評価での審査結果：総合所見において指摘を受けた事項への対応状況>

総合所見：『本領域研究は、細胞内の複雑な伝達経路において、シグナルの検出、伝達、応答を担うタンパク質が機能している現場で形成される複合体の3次元高次構造を、高分解能で決定することを目指すものである。公募により様々な分野からの研究者が採択され、計画研究代表者が中心となり多様な共同研究が展開されている。既にインパクトの高い原著論文も発表され、領域代表者の強いリーダーシップにより順調に研究が推進されており、当初の研究領域の設定目的に照らして、期待以上の進展が認められる。若手研究者の参画や、HPでの各研究代表者の発表成果を解説付きで共有できるようにするなど、人材育成や成果の公開においても工夫がみられ、評価できる。構造生物学は日本の貢献度の高い分野であり、その代表として後半における本領域研究の一層の発展を期待したい。』

改善等を特に指摘された事項はない。より一層に推進した。

<中間評価での評価に当たっての着目点ごとの所見で指摘を受けた事項への対応状況>

指摘事項(1)：(b)研究成果で、『異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの』としては、件数は多くないものの、細菌学との共同研究のように成功しているものもある。共同研究の件数が少ないのはタンパク質複合体の構造解析という研究の性格上、時間がかかり、簡単な共同研究が成立しづらいことによると考えられるが、構造解析の専門家が領域内の研究者の相談に応じ、共同研究へと発展させている点は高く評価できる。』

異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等は、発足当初から模索してきており、成果がわかり易い形で目に付くようになるには、確かに時間がかかるようである。指摘を受けて、これまで以上に奨励して、個別のタンパク質の構造解析結果に基づいたより細胞生物学的な研究に挑戦できるように展開することを推進した。特に、中間評価後の公募研究ではこのことを意識して異分野研究者の応募の奨励や、選考委員となった班員はそれらの採択を前向きに検討した。その結果、異なる学問分野研究者との共同研究等が増加した。例えば、細胞レベルでの機能解析では下記のような研究展開が見られた。

X線の専門家の深井・東大(A01)と神経科学・医学の植村・東大(A03)とのシナプス形成におけるGluRδ2-Cbln1-NRXN三者複合体の構造・機能研究であり、大きな成果が上がりつつある。この研究では、ヒト培養細胞のタンパク質発現系の利用に長けている前仲・北大(A03)による指導が功を奏している。また、機能解析のための新しい方法論の樹立を佐藤・産総研(A01)と連携して実施している。また、電頭の専門家である佐藤・産総研(A01)と医学の黒河・東北大(A01)との酸化ストレスセンサーKeap1の研究でも大きな成果が上がりつつある。

また、X線の専門家の山下・阪大(A02)とRNAの専門家の沼田・産総研(A02)との連携では、山下等のtRNA-Importin-5-Ran GTPaseの研究が大幅に進展した。更に、白川・東北大(A01)は、構造解析の試みを連携研究者である深井・東大(A01)との連携により行った。

また、成果があがっているとの指摘のあった細菌学との共同研究では、金・東大(A03)と三島・首都大(A01)と赤痢菌の病原因子(OspE)についてNMR解析を新たに進めた。また、橋本・静岡県大(A02)とは赤痢菌の病原因子(IpaB)と相互作用するMad2L2との複合体解析を進めた。更に、他の新学術領域研究との共同研究(畠山・東大医「発がんスパイラル」と千田・高エネ機構(A02)とのピロリ菌CagAの構造研究)や、特別推進研究との共同研究(笹川・東大医「病原細菌の自然免疫克服戦略の解明とその応用」と水島・兵庫県大(A03)との赤痢菌OspIの構造研究)もある。

指摘事項(2)：(c)研究組織で、『. . . 一方で、異分野の研究者の参画があるとなお良いという指摘もある。』

上記(1)でも述べたが、異分野の研究者の参画を意識して、公募研究の採択を行った。上記と重複するが、生物系研究者として、A01では、堅田・東大(GPCRシグナル)と岡田・阪大(MAPK, mTOR)、A02では山本・沖縄科学大(CCR4-NOT系)、A03では白川・東北大(RalGAPシグナル)と植村・信州大(神経系シグナル)を1期2期ともに採択し、さらに2期ではA03で金・東大(赤痢菌病原因子)と木村・京大(チャンネル・トランスポーター)を加え、公募班により異分野の参画を決定した。その結果、中間評価後に新たな共同研究等の交流が以下のように促進された。例えば、木村(京大・農): トランスポーターのゲート解明において、班会議等での班員からの助言を基に新たな実験系構築に成功した。他に、生物系研究者同士の交流も行われ、山本・沖縄科学大と金・東大は、標的タンパク質発現・精製方法の情報交換に加え、遺伝子改変マウスの解析の協力へと進んだ。

指摘事項(3): (e)今後の研究領域の推進方策では、『HPで今後は、この領域での世界的な他の研究グループの研究成果の紹介記事も加えれば、分野に幅のある班員の共通理解の向上につながると期待できる。また、新学術領域研究を組織することによって見出された知見や新しい流れをより明確にして欲しいという意見もあった。』

HPに新たに論文紹介のコーナーを新設し、この領域での世界的な他の研究グループの研究成果の紹介記事を掲載して、世界の最前線を意識できるようにした。これには若手研究者や大学院生が記事を執筆し、彼らの教育の目的も踏まえ、指導教員が添削したものを掲載している。同時に研究成果のコーナーでは、継続して成果を英文の要旨だけではなく、平易な日本語でわかりやすい解説をつけ、異分野の班員にも十分に理解をしてもらえ工夫を行っている。領域終了後も継続して毎月発行しているニュースレターと連携して、HPに掲載を続け、広く本邦の研究者に構造細胞生物学研究を取り入れて異分野交流によって初めて達成しうるサイエンスへと進展することに貢献するものと信じる。また、これらの日本語による情報発信は各研究者のアピールの場となっており、若手教員のポストの獲得や昇任へと貢献している。いずれのポイントも、トップページの最も目立つ部分にタブを付け、見逃さない仕組みにしている。

指摘事項(4): (e)今後の研究領域の推進方策では、『なお、個別のタンパク質の構造解析に終わらず、より細胞生物学的な研究に挑戦して欲しいという意見もあった。』

これは、指摘事項(1)や(2)と関連する指摘であるが、より細胞生物学的な研究に挑戦の観点の例としては、PI5P4Kの生物学的機能の研究に関して(A01班 竹内、A02班 千田 + シンシナティ大学 佐々木助教授)、シンシナティ大学の佐々木助教授を中心とした本研究グループは、細胞内にGTPセンサーがあるという予想のもと、候補タンパク質の単離等を行ってきた。プロテオミクス的な研究からPI5P4KβをGTPセンサーの候補タンパク質として単離した。その後、PI5P4Kβの生物学的機能を解析するために、構造生物学的手法を利用してきた。NMRを使った解析によりPI5P4KβがGTPをリン酸化反応に使うことを明らかにするとともに、PI5P4Kβの結晶構造解析から、PI5P4KβのATPおよびGTPの認識様式を明らかにし、本酵素のGTP親和性を構造の面から明らかにした。さらに、得られた構造に基づきGTPに対する活性のみを欠損したPI5P4Kβ変異体を作成し、この変異体を利用して生物学的な解析を行うことで、PI5P4Kβは、GTP濃度を感知するセンサーとして機能していることを示すことができた。本研究は、構造データをもとにデザインしたタンパク質を、その機能の解明に直接的に役立てたもので、構造データの生物学への貢献を示すものである。これらの結果は、現在論文として投稿中である。

一研究グループが構造解析から細胞生物学の研究までの全てを、国際的な競争力をもって維持するのは日本の研究室では難しい(米国では例外的にある、例えばMacKinnonラボもその例)。しかし、より密な関係の共同研究を通して、プロジェクトチームとして、全方位的な研究展開を図っていくのは時代の流れに沿った研究戦略(例えば2012年のGPCRに関するNobel賞はこれにあたる)であると考えるので、若手にはそのような時代を生き抜いて欲しい旨のことを折に触れて話をしてきた。

5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

（3 ページ程度）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいもの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ごとに計画研究・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。

研究項目 A01 細胞内シグナルの検知と伝達の構造生物学

計画研究

最新の成果としては、先ず動物細胞に特徴的な運動制御のシグナリング研究では、細胞間の接着結合（adherence junction, AJ）で張力センサーとしてはたらく α -catenin の構造的基礎と三次元細胞培養を利用した細胞レベルでの解析や原子間力顕微鏡による張力測定の共同研究の結果と合わせて、AJ の張力依存性の分子機構を明らかにした（投稿中、箱嶋他 3 名）。膜融合の特異性と高効率性を保証する Exocyst 複合体の研究では、Sec6 サブユニットのホモログで、免疫細胞の tunneling nanotube (TNT) 形成に関わる M-Sec の結晶構造を 3.0 Å 分解能で決定して、*in vitro* での脂質との結合と *in vivo* での TNT 形成を解析して、N 末端の 70 残基がイノシトールリン脂質への結合や TNT 形成と突起部位への局在に必要であることを明らかにした（論文改訂中）（深井他 3 名）。

また、がん抑制遺伝子産物 CYLD による直鎖および K63 鎖ユビキチンの認識機構の解明 (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2015) や、植村・東大 (A03) 等とシナプス形成複合体等のチャレンジングなテーマにも取り組み、構造解析を行った (*Nature Commun.*, 2015; *Sci. Rep.*, 2015)（深井他 3 名）。また、高分解能化に取り組んできた単粒子構造解析法では、微小管の単粒子解析的に構造解析することで tubulin サブユニット構造を 2 次構造レベルで解明して、世界で初めて微小管単独の電顕画像から再構成法によって α -tubulin と β -tubulin を区別するという成果 (*EMBO J.*, 2015) や、ゲノム編集技術で注目されている CRISPR 酵素複合体の解析 (A02 公募班 沼田・産総研との共同研究) で成果を上げた (*Mol. Cell*, 2015; *J. Mol. Biol.*, 2015)（佐藤他 3 名）。この方法論の論文は、らせん構造を simulated annealing 法を用いて高分解能決定するプログラム (*J. Struct. Biol.*, 2014) や確率分布を予測する高精度な画像拾い上げプログラム (*Microscopy*, 2013) として発表している。独自の ASEM（大気圧走査電子顕微鏡）を用いた細胞微細構造観察では、A03 公募班の植村等との共同研究により、初代培養神経細胞の軸索伸長やシナプス形成の過程を 8 nm 分解能で観察した (*Ultramicroscopy*, 2014)（佐藤他 3 名）。

また、タンパク質分解を介するシグナル伝達では、サリドマイドの標的タンパク質 cereblon とサリドマイド誘導体薬剤との複合体 (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2014) や神経線維症種 II の原因タンパク質の複合体の構造研究（箱嶋他 3 名）、あるいは、複合体構造決定による HOIL1 による直鎖ユビキチンの認識機構の解明 (*PNAS*, 2012)（深井他 3 名）でも成果を上げた。

更に、運動の方向決定に関与する myosin-X の積荷認識ドメイン (MyTH4-FERM) と積荷認識機構の解明 (*EMBO J.*, 2011)、薬物の結合した三量体 GTPase の世界初の構造 (*PNAS*, 2010)、低分子量 GTPase の Rac の重要な GEF タンパク質 Tiam1 の新規な膜・膜タンパク質相互作用ドメイン PHCCEx ドメインの構造と機能を解明した (*EMBO J.*, 2010)（箱嶋他 3 名）。また、タンパク質の膜透過複合体 SecDF (*Nature*, 2011) の構造決定に貢献した（深井他 3 名）。

公募研究

タンパク質キナーゼ関連では、MAPK p38 α と基質との複合体の NMR 解析により、基質のもつドッキング配列との相互作用が、アロステリックに活性部位の ATP 親和性や反応速度を増大させることを明らかにした (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2014)（竹内・産総研）。ヘムシグナリングでは、ATP 依存的にヘムの膜透過を行う病原性細菌のヘムトランスポーター複合体の結晶構造の決定や、ヘム鉄を感知する二成分情報伝達系複合体の ChrA の結晶構造、あるいは NO 還元酵素の構造決定で成果を上げた (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2011)（杉本・理研）。また、RNA 結合活性を持つ鉄代謝制御蛋白質である Iron Regulatory Protein (IRP) のヘム結合の機構や RNA 結合活性との関係を分光学的な手法で解明した (*PNAS*, 2011)（石森・北大）。植物の自家不和合性を決定するタンパク質 (S-RNase, SLF, SRK) はこれまで調製困難であったが、調製す

る系を確立し、特に S-RNase は高分解能結晶の作製まで進展した（村瀬・奈良先端大）。

研究項目 A02 核内シグナルの認識と応答の構造生物学

計画研究

クロマチンリモデリング制御複合体の構造と機能の解析では、ヒストンシャペロン CIA と H3-H4 複合と Mcm2 との相互作用が複製フォーク進行の制御に関与することを示唆する結果を得た。高分子量型ヒストンシャペロン HIRA の研究では、C 末端ドメインの結晶化に成功し、構造解析を進めている。また、「チャレンジングな研究」としては、高分子量型ヒストンシャペロン CAF-I や TFIID などの複合体を安定的に精製する系を立ち上げ、性状解析の段階まで来た。他にも、核内からの各種複合体の精製に成功しており、これらを用いた更に大きな複合体の再構成や性状解析を通じて、高次構造解析への道を探っている。また、核輸送関連の核内複合体の構造解析では、核輸送担体 (Exportin-5)、輸送制御因子 (RanGTP) と低分子 RNA との複合体の構造解析に、またインポーチン α と NLS ペプチドとの複合体の構造解析も達成した（投稿準備中、山下・阪大）。また、特に核外輸送の構造研究を総括した (*Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2011)。

方法論の開発では、本新学術領域で購入した高精度高速試料回転軸を、SPRING-8 の阪大蛋白放射光ビームライン BL44XU に設置するとともに、低振動化によりビームの安定性の向上を達成して、微小結晶の測定に適した放射光ビームラインのマイクロビーム化を達成した（山下・阪大）。本装置は、本新学術領域研究の実験推進に大きく寄与した。

公募研究及び公募・計画の共同研究等

原核生物が外来核酸から身を守る生体防御機構の一つである CRISPR システムの重要性はその応用で増大している。細胞内における外来核酸の発現を特異的に抑制するために外来核酸の配列特異的に分解するエフェクター複合体 (microRNA とのリボ核酸複合体) の構造研究を推進した。機能に必要な Cmr2-Cmr6 および crRNA から構成された複合体 (Cmr Δ 1: Cmr1-deficient Cmr 複合体) と 31 nt の標的アナログとの複合体の結晶構造を分解能 2.1 Å で決定し、RNA 認識機構を解明した (*Mol. Cell*, 2015) (沼田・産総研)。

独自の方法論の応用研究としては、水素-重水素交換質量分析や分析超遠心法を用いた解析を構造解析と組み合わせることで、自然免疫に関わる TLR9 受容体 (A03 の大戸等との共同研究) の溶液中でのリガンドとの相互作用に関して知見を得ることに成功している (内山・阪大; *Nature* 2015)。

DNA 複製に関しては、ハブ因子である Sld3 と相互作用因子の複合体の構造解析に成功している (*Structure*, 2014) (伊藤・遺伝研)。また、真核生物の染色体凝縮を担うコンデンシン複合体の祖先型であり、染色体の維持と分配に先導的な役割を担うと考えられている原核生物の SMC 複合体に関し、その制御サブユニットの構造と機能を明らかにするため X 線結晶構造と遺伝学的生化学的側面からアプローチし、電子顕微鏡の観察結果も総合して、SMC 複合体の機能には制御サブユニット (ScpA-ScpBx2 ヘテロ 3 量体) の構造変化が重要であることを見出した (*Structure*, 2013) (鎌田・理研)。

脊椎動物のキネトコア構成因子である CENP-HIKLMN (H から N の 6 サブユニットから構成) 複合体と相互作用する CENP-T のリン酸化模倣ペプチドと Spc24-Spc25 との複合体の結晶構造を決定し、キネトコア複合体への微小管結合に関して構造的基盤を確立した (*EMBO J.*, 2013) (西野・理科大)。CENP-T、CENP-TW 複合体の球状ドメインは、ヒストンと類似した構造をもつこと、同様にヒストン様構造ドメインをもつ CENP-S、CENP-X とヘテロテトラマーを形成することも結晶構造解析や生化学実験により明らかにした (*Cell*, 2012)。CENP-T は、溶液中にて高速 AFM を用いて複合体を観察したところ、50 nm 程の長い天然変性領域と、10 nm 程の球状ドメインより構成されていることも明らかにしており (*J. Cell Biol.*, 2011)、この分野の leading scientist の一人となりつつある (西野・理科大)。

mRNA プロセッシングの研究では、チロシンキナーゼ下流で増殖刺激等によりリン酸化されるアダプター Tob と会合する CCR4-NOT 複合体の構造解析をすすめて、この複合体の形成や mRNA の脱アデニル化反応への Tob の関与の仕組みを解析した (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2011)。最近、CNOT7-Tob1-poly(A)複合体の構造決定に成功しており、脱アデニル化のための poly(A)トラップの詳細が明らかとなった (山本・東大医科研/沖縄大学院)。その他の RNA 関連では、tRNA とその修飾酵素 (C 塩基修飾) の複合体の構造決定

で成果を上げた (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2011) (沼田・産総研)。

研究項目 A03 医学上重要な分子複合体研究の構造生物学

計画研究

構造分子医学推進のための試料調製の技術開発を進めて、多くの共同研究で成果をあげた。例えば、ヒト培養細胞発現系について、植村・東大(研究項目A03)と深井・東大(計画班、研究項目A01)へ実験手法のアドバイス、カイコを用いた発現系について、三島・首都大(計画班、研究項目A01)の研究者を受け入れて指導した。また有吉・京大(公募班、研究項目A02)との共同研究を進め、実際に共著論文を仕上げるまで進んだ。巻き戻し法、HEK293TGnTI⁻細胞およびカイコバキュロウイルス*BmNPV* 発現系等により、表面タンパク質等の発現および一部は結晶化と構造決定で成果をあげた(*PNAS*, 2014; *Sci. Rep.*, 2014; *Nat. Commun.*, 2015等) (前仲他3名)。また、最近抗体医薬品として大変注目を集めている免疫チェックポイントに關与する免疫系受容体群の構造研究でも成果をあげた。例えば、C型レクチン受容体であるMincle (Macrophage inducible C-type lectin) やMCL (Macrophage C-type lectin) は結核菌細胞壁に存在する糖脂質TDM (Trehalose 6,6-dimycolate) と結合して免疫細胞を活性するが、X線結晶構造解析等により、既知のものとは異なる機構で糖と脂質を同時に認識していることが明らかとなった(*PNAS*, 2013) (前仲他3名)。また、麻疹ウイルス表面受容体結合蛋白質MV-Hとヒト免疫系受容体SLAMとの複合体の結晶構造解析に成功し、麻疹ウイルスの免疫細胞への侵入/融合システムについて新たなモデルを提唱すると同時に、麻疹ウイルスワクチンの有効性を明らかにした(*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2011)。これらの結果を用いた創薬展開が現在推進しており、今後が大変楽しみな状況である(未発表) (前仲他3名)。

また、オートファジータンパク質では、Atg12-Atg5 や Atg3 等 (*Nature Struct. Mol. Biol.*, 2013; 2014) や、特殊なE1 酵素である Atg7 によるオートファジーの進行に必須な Atg8 の活性化機構の解明(*Molecular Cell*, 2011) 等で成果をあげた(稲垣)。チロシンキナーゼ下のシグナル抑制因子 CBL の分子複合体構造と病因変異の解析では、Y363 のリン酸化により活性化されることで E3 として機能する Cbl-b の NMR による詳細な解析から、その活性の制御機構を明らかにした(*PNAS*, 2011) (稲垣)。

ヘリコバクターピロリ菌 CagA タンパク質は、感染時に宿主細胞に注入されて、その細胞内シグナル伝達経路を攪乱する発がんタンパク質であることが東大・畠山等によって明らかにされている。この構造決定に千田・産総研等が挑戦して、成果をあげた(*Cell Host Microbe*, 2011)。この構造に基づいて、CagA の N-末端内にある NBS 配列と C-末端側にある CBS 配列の相互作用に依存して、細胞内のシグナルを攪乱する CagA-PAR1 (リン酸化酵素) -SHP2 (脱リン酸化酵素) 複合体が逐次的に形成されるというモデルを提案した。

公募研究、計画研究との共同研究等

自然免疫の Toll 様受容体 (TLR) の研究は国際競争が激烈であるが、一本鎖 RNA を認識する TLR8、CpG モチーフ DNA を認識する TLR9 の構造解析に成功し、世界をリードしている (*Science*, 2013; *Nature*, 2015; *Nature Struct. Mol. Biol.*, 2015) (大戸・東大)。また、グラム陰性細菌の外膜構成成分である lipopolysaccharide (LPS) の TLR4/MD-2 による認識機構で成果が上がっている (*PNAS*, 2012, *Cell Metabol.*, 2011) (大戸・東大薬)。いずれも創薬の重要なターゲットとなる受容体であり、これらの研究により TLR 分子の実体が視覚化され詳細なリガンド認識機構を明らかになり、本構造を基にした創薬への展開が期待される。

ユビキチン-プロテアソーム系での研究では、赤痢菌エフェクタータンパク質 Osp1 の構造決定と生化学的性状の解析により、Osp1 は炎症シグナル経路の制御に重要な TRAF6 の活性化に必要な Ubc13 に結合して、100 番目のグルタミンを脱アミド化する新規な脱アミド化酵素であることを明らかにした (*Nature*, 2012) (水島・兵庫県立大)。また、26S プロテアソームという巨大複合体等のチャレンジングな研究にも挑戦している。

μ オピオイド受容体については、ナノディスクを利用して安定な状態で NMR 解析を行った結果、細胞内側が閉じた状態と、複数の細胞内側が開いた状態の動的構造平衡状態にあり、各状態の量比が G タンパク質シグナルと β -アレスチンシグナルの強さと選択性を決定していることを、世界で初めて明らかにした

(*Angew. Chem. Int. Ed.*, 2014) (上田・東大)。本研究は、GPCR の選択的な細胞内シグナル活性化の機構の解明および副作用の少ないオピオイド性鎮痛薬の開発に大きく貢献する。他に、新規の発現技術 IR/MAR 法は、ほ乳動物細胞の高発現株を選択することで、結晶構造解析へと向けたタンパク質大量調製技術として期待できる (前田・先端医療振興財団)。

6. 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）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（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、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、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。また、別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。

(1) 主な論文等一覧

英文の原著論文（査読付き）が **430 報**、和文（総説等）が **28 報**で、**合計 458 報**の論文を発表した（2015年5月現在）。主な論文一覧を以下に記す。

- 1) ◎Structural basis of CpG and inhibitory DNA recognition by Toll-like receptor 9. Ohto, U., Shibata, T., Tanji, H., Ishida, H., Krayukhina, E., Uchiyama, S., Miyake, K. and *Shimizu, T. *Nature* **520**, 702-705 (2015).
- 2) Structures of CYLD USP with Met1- or Lys63-linked diubiquitin reveal mechanisms for dual specificity. Sato, Y., Goto, E., Shibata, Y., Kubota, Y., Yamagata, A., Goto-Ito, S., Kubota, K., Inoue, J., Takekawa, M., Tokunaga, F. and *Fukai, S. *Nature Struct. Mol. Biol.*, **22**, 222-229 (2015).
- 3) ◎Toll-like receptor 8 senses degradation products of single-stranded RNA. #Tanji, H., #Ohto, U., Shibata, T., Taoka, M., Yamauchi, Y., Isobe, T., Miyake, K. and *Shimizu, T. *Nature Struct. Mol. Biol.* **22**, 109-15 (2015). (# equally contributed)
- 4) Structural basis for amyloidogenic peptide recognition by sorLA. Kitago, Y., Nagae, M., Nakata, Z., Yagi-Utsumi, M., Takagi-Niidome, S., Mihara, E., Nogi, T., Kato, K. and *Takagi, J. *Nature Struct. Mol. Biol.* **22**, 199-206 (2015).
- 5) ◎Mechanisms of splicing-dependent *trans*-synaptic adhesion by PTPδ-IL1RAPL1/IL-1RAcP for synaptic differentiation. Yamagata, A., *Yoshida, T., Sato, Y., Goto-Ito, S., Uemura, T., Maeda, A., Shiroshima, T., Iwasawa-Okamoto, S., Mori, H., Mishina, M. and *Fukai, S. *Nature Commun.*, **6**, 6926 (2015).
- 6) Targeting cell surface TLR7 for therapeutic intervention in autoimmune diseases. Kannno, A., Tanimura, N., Ishizaki, M., Ohko, K., Motoi, Y., Onji, M., Fukui, R., Shimozato, T., Yamamoto, K., Shibata, T., Sano, S., Sugahara-Tobinai, A., Takai, T., Ohto, U., Shimizu, T., Saitoh, S. and *Miyake, K. *Nature Commun.* **6**, 6119 (2015).
- 7) DNase II-dependent DNA digestion is required for DNA sensing by TLR9. Chan, M. P., Onji, M., Fukui, R., Kawane, K., Shibata, T., Saitoh, S., Ohto, U., Shimizu, T., Barber, G. N. and *Miyake, K. *Nature Commun.* **6**, 5853 (2015).
- 8) ◎The structural basis for receptor recognition of human interleukin-18. Tsutsumi, N., Kimura, T., Arita, K., Ariyoshi, M., Ohnishi, H., Yamamoto, T., Park, E. Y., Maenaka, K., Zuo, X., Kondo, N., Shirakawa, M., *Tochio, H. and *Kato, Z. *Nature Commun.* **5**:5340 (2015).
- 9) Structural basis of starvation-induced assembly of the autophagy initiation complex. Fujioka, Y., Suzuki, S. W., Yamamoto, H., Kondo-Kakuta, C., Kimura, Y., Hirano, H., Akada, R., *Inagaki, F., Ohsumi, Y. and Noda N. N. *Nature Struct. Mol. Biol.* **21**, 513-21 (2014).
- 10) ◎Allosteric enhancement of MAP kinase p38α's activity and substrate selectivity by docking interactions. Tokunaga, Y., Takeuchi, K., Takahashi, H. and *Shimada, I. *Nature Struct. Mol. Biol.* **21**, 704-711 (2014).
- 11) RBFOX and SUP-12 sandwich a G base to cooperatively regulate tissue-specific splicing. Kuwasako, K., Takahashi, M., Unzai, S., Tsuda, K., Yoshikawa, S., He, F., Kobayashi, N., Guntert, P., Shirouzu, M., Ito, T., Tanaka, A., Yokoyama, S., *Hagiwara, M., *Kuroyanagi, H. and *Muto, Y. *Nature Struct. Mol. Biol.* **21**, 778-86 (2014).
- 12) ◎Structure of the human Cereblon-DDB1-lenalidomide complex reveals basis for responsiveness to thalidomide analogs. *Chamberlain, P. P., Lopez-Girona, A., Miller, K., Carmel, G., Pagarigan, B., Leon, B., Rychak, E., Corral, L., Ren, Y. J., Wang, M., Riley, M., Delker, S., Ito, T., Ando H., Mori, T., Hirano, Y., Handa, H., Hakoshima, T., Daniel, T. O. and Cathers, B. E. *Nature Struct. Mol. Biol.* **21**, 803-809 (2014).
- 13) Epigenetic silencing of miR-210 increases the proliferation of gastric epithelium during chronic *Helicobacter pylori* infection. Kiga, K., Mimuro, H., Suzuki, M., Shinozaki-Ushiku, A., Kobayashi, T., Sanada, T., Kim, M.,

- Ogawa, M., Iwasaki, Y. W., Kayo, H., Fukuda-Yuzawa, Y., Yashiro, M. Fukayama, M., *Fukao, T. and *Sasakawa, C. *Nature Commun.* **5**, 4497 (2014).
- 14) ©TRPV4 channel activity is modulated by direct interaction of the ankyrin domain to PI(4,5)P₂. Takahashi, N., Hamada-Nakahara, S., Itoh, Y., Takemura, K., Shimada, A., Ueda, Y., Kitamata, M., Matsuoka, R., Hanawa-Suetsugu, K., Senju, Y., Mori, M.X., Kiyonaka, S., Kohda, D., *Kitao, A., *Mori, Y. and *Suetsugu, S., *Nature Commun.* **5** 4994 (2014).
 - 15) The microRNA miR-235 couples blast-cell quiescence to the nutritional state. Kasuga, H., *Fukuyama, M., Kitazawa, A., Kontani, K., and Katada, T. *Nature* **497**, 503–506 (2013).
 - 16) ©Impaired α-TTP-PIPs interaction underlies familial vitamin E deficiency. #Kono, N., #Ohto, U., Hiramatsu, T., Urabe, M., Uchida, Y., Satow, Y. and *Arai, H. *Science* **340**, 1106-1110 (2013). (# equally contributed)
 - 17) Atg12-Atg5 conjugate enhances E2 activity of Atg3 by rearranging its catalytic site. Sakoh-Nakatogawa, M., Matoba, K., Asai, E., Kirisako, H., Ishii, J., Noda, N. N., *Inagaki, F., Nakatogawa, H. and Ohsumi, Y. *Nature Struct. Mol. Biol.* **20**, 433-439 (2013).
 - 18) Genetically encoded calcium indicator illuminates calcium dynamics in primary cilia. Su, S., Phua, S. C., Derose, R., Chiba, S., Narita, K., Kalugin, P. N., Katada, T., Kontani, K., Takeda, S. and *Inoue, T. *Nature Methods* **10**, 1105–1107 (2013).
 - 19) The *Shigella* OspC3 effector inhibits Cspase-4, antagonizes inflammatory cell death, and promotes epithelial infection. Kobayashi, T., Ogawa, M., Sanada, T., Mimuro, H., Kim, M., Ashida, H., Akakura, R., Yoshida, M., Kawalec, M., Reichhart, J-M., Mizushima, T. and *Sasakawa, C. *Cell Host Microbe.* **13**, 570-83 (2013).
 - 20) ©The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response. Sanada, T., Kim, M., Mimuro, H., Suzuki, M., Ogawa, M., Oyama, A., Ashida, H., Kobayashi, T., Koyama, T., Nagai, S., Shibata, Y., Gohda, J., Inoue, J., *Mizushima, T. and *Sasakawa C. (double corresponding authors) *Nature* **483**, 623-626 (2012).
 - 21) Crystal structure of an orthologue of the NaChBac voltage-gated sodium channel. Zhang, X., Ren, W., DeCaen, P., Yan, C., Tao, X., Tang, L., Wang, J., Hasegawa, K., Kumasaka, T., He, J., Wang, J., Clapham, D. E. and *Yan N. *Nature* **486**, 130-135 (2012).
 - 22) CENP-T-W-S-X forms a unique centromeric chromatin structure with a Histone-like fold. Nishino, T., Takeuchi, K., Gascoigne, K. E., Suzuki, A., Hori, T., Oyama, T., Morikawa, K., Cheeseman, I. M. and *Fukagawa T. *Cell* **148**, 487-501 (2012).
 - 23) Coagulation factor X activates innate immunity to human species C adenovirus. Doronin, K., Flatt, J. W., Di Paolo, N. C., Khare, R., Kalyuzhniy, O., Acchione, M., Sumida, J. P., Ohto, U., Shimizu, T., Akashi-Takamura, S., Miyake, K., MacDonald, J. W., Bammler, T. K., Beyer, R. P., Farin, F. M., Stewart, P. L. and *Shayakhmetov, D. M. *Science* **338**, 795-798 (2012).
 - 24) Crystal structure of quinol-dependent nitric oxide reductase from *Geobacillus stearothermophilus*. Matsumoto, Y., Tosha, T., Pislakov, A. V., Hino, T., Sugimoto, H., Nagano, S., Sugita, Y. and *Shiro, Y. *Nature Struct. Mol. Biol.* **19**, 238-245 (2012).
 - 25) Non-canonical recognition and ambiguous Ubl-loading to two distinct E2s by autophagy-essential E1, Atg7. Yamaguchi, M., Matoba, K., Sawada, R., Fujioka, Y., Nakatogawa, H., Yamamoto, H., Kobashigawa, Y., Hoshida, H., Akada, R., Ohsumi, Y., Noda, N. N. and *Inagaki, F. *Nature Struct. Mol. Biol.* **19**, 1250-1256 (2012)
 - 26) A role for mDia, a Rho-reg ulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors. Shinohara, R., Thumkeo, D., Kamijo, H., Kaneko, N., Sawamoto, K., Watanabe, K., Takebayashi, H., Kiyonari, H., Ishizaki, T., Furuyashiki, T. and Narumiya, S. *Nature Neurosci.* **15** 373-380 (2012)
 - 27) A role for mDia, a Rho-regulated actin nucleator, in tangential migration of interneuron precursors. Shinohara, R., Thumkeo, D., Kamijo, H., Kaneko, N., Sawamoto, K., Watanabe, K., Takebayashi, H., Kiyonari, H., Ishizaki, T., Furuyashiki, T. and *Narumiya, S. *Nature Neurosci.* **15**. 373-380 (2012).
 - 28) ©Saturated fatty acid and TLR signaling link beta cell dysfunction and islet inflammation. Eguchi, K., *Manabe, I., Oishi-Tanaka, Y., Ohsugi, M., Kono, N., Ogata, F., Yagi, N., Ohto, U., Kimoto, M., Miyake, K., Tobe, K., Arai, H., Kadowaki, T. and Nagai, R. *Cell Metab* **15**, 518-33 (2012).
 - 29) ©Saturated Fatty Acid and TLR Signaling Link β Cell Dysfunction and Islet Inflammation. Eguchi K., *Manabe

I., Oishi-Tanaka Y., Ohsugi M., Kono N., Ogata F., Yagi N., Ohto U., Kimoto M., Miyake K., Tobe K., Arai H., Kadowaki T. and *Nagai R. *Cell Metab.* **15**, 1-16 (2012).

- 30) ©Tertiary structure and functional analysis of the Helicobacter pylori CagA oncoprotein. Hayashi, T., Senda, M., Morohashi, H., Higashi, H., Horio, M., Nagase, L., Sasaya, D., Shimizu, T., Venugopalan, N., Kumeta, H., Noda, N. N., Inagaki, F., *Senda T. and *Hatakeyama M. (double corresponding authors) *Cell Host Microbe* **12**, 20-33 (2012).
- 31) Structure and function of a membrane component SecDF that enhances protein export. Tsukazaki, T., Mori, H., Echizen, Y., Ishitani, R., Fukai, S., Tanaka, T., Perederina, A., Vassilyev, D. G., Kohno, T., Maturana, A. D., Ito, K. and *Nureki O. *Nature* **474**, 235-238 (2011).
- 32) Rotational movement of the formin mDia1 along the double helical strand of an actin filament. Mizuno, H., Higashida, C., Yuan, Y., Ishizaki, T., Narumiya, S. and *Watanabe, N. *Science* **331**, 80-83 (2011).
- 33) Structural basis of tRNA agmatinylation essential for AUA codon decoding. Osawa, T., Kimura, S., Terasaka, N., Inanaga, H., Suzuki, T. and *Numata, T. *Nature Struct. Mol. Biol.* **18**, 1275-1280 (2011).
- 34) Biogenesis of 2-agmatinylcytidine catalyzed by the dual protein and RNA kinase TiaS. Terasaka, N., Kimura, S., Osawa, T., Numata, T. and *Suzuki T. *Nature Struct. Mol. Biol.* **18**, 1268-1274 (2011).
- 35) miRNA-mediated deadenylation is orchestrated by GW182 through two conserved motifs that interact with CCR4-NOT. Fabian, M. R., Cieplak, M. K., Frank, F., Morita, M., Green, J., Srikumar, T., Nagar, B., Yamamoto, T., Raught, B., Duchaine, T. F. and *Sonenberg, N. *Nature Struct. Mol. Biol.* **18**, 1211-1217 (2011).
- 36) ©Structure of the measles virus hemagglutinin bound to its cellular receptor SLAM. Hashiguchi T., Ose T., Kubota M., Maita N., Kamishikiryo J., *Maenaka K. and *Yanagi Y. (double corresponding authors) *Nature Struct. Mol. Biol.* **18**, 135-141 (2011).
- 37) An energy transduction mechanism used in bacterial flagellar type III protein export. Minamino, T., Morimoto, Y. V., Hara, N. and *Namba, K. *Nature Commun.* **2**, 475 (2011).
- 38) NMR protein structure determination in living *E. coli* cells using nonlinear sampling. Ikeya T., Sasaki A., Sakakibara D., Shigemitsu Y., Hamatsu J., Hanashima T., Mishima M., Yoshimasu M., Hayashi, N., Mikawa T., Nietlispach D., Wälchli M., Smith BO., Shirakawa D., Güntert P., *Ito, Y. *Nature Protoc.* **5**, 1051-1060 (2010).E-pub May 13
- 39) Structural basis of Atg8 activation by a homo-dimeric E1, Atg7. Noda, N.N., Satoo, K., Fujioka, Y., Kumeta, H., Ogura, K., Nakatogawa, H., Ohsumi, Y. and *Inagaki, F. *Molecular Cell* **44**, 462-475 (2011).

その他、*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*、*EMBO J.*、*J. Cell. Biol.* に 39 報等の論文を発表した。

(2) ホームページ (HP)

ホームページ (HP) は平成 22 年度 9 月に開設した。先ず、フロントページで本学術領域研究の立ち上げに至った経緯と基本的な考え方を紹介して、関連研究者や周辺研究者の理解を求めるとともに、賛同する研究者の参画を促すように勤めた (領域代表の挨拶)。この他、ニュース、研究、成果、組織、シンポジウム・領域会議、研究相談、お問い合わせのメニューをつけた。研究のメニューでは、概要、研究推進図、研究の目的と意義を説明して、3 つの研究項目での計画研究の概要と、公募研究の公募要領 (文部科学省の科学研究費の公募要領に掲載したもの) と、<補足>と題して、公募要領の背景を説明して、各研究項目や、研究のタイプ (総額 400 万円以下と 200 万円以下) への応募の判断が円滑にできるように配慮した。

成果のメニューでは、最新の発表論文の abstract と日本語による短い解説と説明図を一枚掲載することで、一般研究者等でも理解が得られるように工夫した。また、PubMed へリンクを張って、各雑誌の HP から原論文をダウンロードできるようにした。この記事は、毎月各研究班員へ配信するニュースレター (PDF ファイル) の「Topics」欄にまとめてあり、各班員の利便を図った。

組織のメニューでは、研究項目毎に、各研究班員の課題を掲載して、訪問研究者の本学術領域の理解を図った。また、シンポジウム・班会議メニューでは、本領域の総括班会議、研究領域の全体会議、幹事会、公開シンポジウムの予告等を掲載して、広く一般の訪問者に告知するとともに研究班員の利便を図っている。研究者紹介のメニューでは、各班員のプロフィールと研究室の紹介を親しみやすい記事として載せる事により、研究者間に加え幅広い層に理解してもらえるように工夫をしている。

中間評価で指摘のあった、本領域に関連する世界的な動向を紹介する論文紹介メニューを新たに加え、分野に幅のある班員の共通理解の向上につながるように、班員の大学院生等による記事を発表して、最新の研究成果や興味深い方法等を取り上げた。その他に、研究相談・問い合わせの各項目で利便を図った。

(3) 公开发表等

年一回の領域全体会議で全班員の研究成果を発表して情報交換するとともに、公開シンポジウム9回とシンポジウム支援3回の計12回の情報公開の機会を提供した。以下にその一覧を記す。

総括班会議と領域全体会議（領域全班員の研究成果報告会）

- 第1回 開催日：2010年12月10日（金）、会場：神戸ポートピアホテル南館16F「シルビア」（神戸）
- 第2回 開催日：2011年7月6日（水）－8日（金）、会場：ホテル日航奈良（奈良）
- 第3回 開催日：2012年6月13日（水）－15日（金）、会場：湯本富士屋ホテル（神奈川）
- 第4回 開催日：2013年6月5日（水）－7日（金）、会場：清里 清泉寮（山梨）
- 第5回 開催日：2014年6月14日（土）－16日（月）、会場：ルスツリゾート（北海道）

公開シンポジウム/ワークショップ等

第1回公開シンポジウム： BMB2010 ワークショップ 4W16

「構造細胞生物学の新展開：New frontier of structural cell biology」（オーガナイザー：箱嶋敏雄、深井周也）

日時：2010年12月10日（金）9:00-11:30、会場：神戸国際会議場502（神戸）

第2回公開シンポジウム（第1回方法論連絡会）： 第11回蛋白質科学会ワークショップ

「タンパク質複合体研究のひと工夫」（オーガナイザー：箱嶋敏雄、稲垣冬彦）

日時：2011年6月9日（木）15:45-18:15、会場：大阪サンパレス（吹田）

第3回公開シンポジウム（第2回方法論連絡会）： 第12回蛋白質科学会ワークショップ

「先端的タンパク質研究のための実験技術」（オーガナイザー：千田俊哉、前仲勝実）

日時：2012年6月20日（水）15:45-18:15、会場：名古屋国際会議場（名古屋）

シンポジウム支援-1： 第85回分子生物学会シンポジウム

「植物ホルモン受容体とシグナリングの分子レベルの生物学」（オーガナイザー：箱嶋敏雄、経塚淳子）

日時：2012年12月12日（水）15:45-18:15、会場：福岡国際会議場（福岡）

シンポジウム支援-2： 第85回生化学会シンポジウム

「深化する構造生物学」（オーガナイザー：神田大輔・稲垣冬彦）

日時 2012年12月14日（金）15:45-18:15、会場：福岡国際会議場（福岡）

シンポジウム支援-3： ICSG2013 (International Conference of Structural Genomics 2013)

「Structural life science」（organizers：Katsumi Maenaka etc）

日時：2013年7月29日（月）－8月1日（木）、会場：札幌京王プラザホテル（北海道）

第4回公開シンポジウム（第3回方法論連絡会）：平成25年度日本結晶学会シンポジウム（共催）

「モアベターなタンパク結晶データ収集ノウハウ（当たり前を比べてみると?）」（オーガナイザー：千田俊哉、平田邦生）

日時：2013年10月13日（日）9:00-11:30、会場：熊本大学黒髪キャンパス（熊本）

第5回公開シンポジウム： 第51回生物物理学会シンポジウム（共催）

「構造細胞生物学の生物物理学的こころ」（2SEA）（オーガナイザー：箱嶋敏雄、深井周也）

日時：2013年10月29日（火）8:45-11:15、会場：京都国際会議場（京都）

第6回公開シンポジウム（第4回方法論連絡会）： 第14回蛋白質科学会ワークショップ（共催）

「限定されたデータからの構造情報の抽出」（オーガナイザー：深井周也、稲垣冬彦）

日時：2014年6月27日（金）15:00-17:30、会場：ワークピア横浜（横浜）

第7回公開シンポジウム： 第52回生物物理学会シンポジウム（共催）

「シグナル伝達機構における構造細胞生物学的新展開」(オーガナイザー:石森浩一郎、前仲勝実)

日時:2014年9月26日(金)16:15-18:45、会場:札幌コンベンションセンター(北海道)

第8回公開シンポジウム:第87回生化学会シンポジウム(共催)

「構造細胞生物学の新展開:イノベーションの起爆剤としての構造」Structural cell biology: a trigger for innovation (オーガナイザー:箱嶋敏雄、月原富武)

日時:2014年10月16日(木)16:15-18:45、会場:京都国際会議場(京都)

第9回公開シンポジウム:第37回日本分子生物学会ワークショップ2W9

「免疫受容体による細胞間コミュニケーションの新しい地平線」(オーガナイザー:深井周也、前仲勝実)

日時:2014年11月26日(水)13:15-15:45、会場:横浜国際会議場(横浜)

(4) 「アウトリーチ活動」

国民との対話では、合計で**76件**のアウトリーチ活動を行ってきている(2015年5月末日現在)。

多いのは、一般社会人や大学を対象とした「サイエンスカフェ」、「研究体験」、「サマースクール」がある。例えば、一般向けに広く構造生物学について講演をした「サイエンスカフェ かたちとはたらき(大阪市)」(稲垣)や高校生の研究室訪問(長崎北陽台高校理数科生徒21人、東大分生研訪問:深井担当)などもある。専門的な部分については、やはり難しいと感じるようだが、興味深く、もっと知りたいという評判であった。

少し珍しいアウトリーチ活動としては、高等学校で汎用されている教材や、高等学校の理科教師向けの情報誌への執筆がある。例えば、*フォットサイエンス生物図録 新課程版*(鈴木孝仁監修)(数研出版:2011年12月初版出版)中の**囲み記事「Pioneer:ジベレリンの作用機構を解析」**を担当した(箱嶋)。この書籍は、高校生物の受験参考書・副読本として広く活用されており(年間10万冊)、「Pioneer」は、研究の最前線とその研究室を紹介する記事であり、植物ホルモンの機能メカニズムを原子レベルで解析する構造生物学という分野が発展していることを紹介した。また、全国の高等学校の理科教師向け機関誌、*理科通信「サイエンスネット」* **43**(数研出版),6-9(2011)。には、「植物ホルモン受容体の分子構造研究」と題して学生の興味を惹きつける授業の資料となるように配慮した(箱嶋)。

招待講演等

International symposium/workshops/seminar 等での英語での講演が**165件**ある(2015年5月末日現在)。以下に数例を上げる。

- 1) Paramagnetic lanthanide probe visualizes change of domain orientation induced by substrate and inhibitor binding and is a useful tool for drug screening. E. Inagaki, *ICMRBS (International Council of Magnetic Resonance in Biological Systems)*, Dallas, Aug. 24 (2014)
- 2) Structural basis for selective cleavage of M1- and M63-linked polyubiquitin chains by a CYLD deubiquitinase. Fukai, S. and Sato, Y. *Cold Spring Harbor Laboratory 2013 Meeting, USA*, May14 (2013).
- 3) Switching mechanism of flagellar motor rotation. Minamino, T. *Gordon Conference on Sensory Transduction in Microorganisms*, Ventura, California, USA, Jan. 18 (2012).
- 4) Structural cell biochemistry of a novel histone fold vertebrate kinetochore complex: CENP-TW and CENP-SX form a heterotetramer. Nishino, T. *American Society for Cell Biology*, Colorado, USA, Dec. 6 (2011).
- 5) Thermodynamic analysis of multi-domain proteins with domain-domain interactions. Uchiyama, S. *Development in Protein Interaction analysis 2011 (DiPIA2011)*, Boston, Nov. 14 (2011).
- 6) Structural basis of cargo recognition by the myosin-X MyTH4-FERM domain. Hirano, Y., Hatano, D., Toriyama, M., Inagaki, N. and Hakoshima, T. “*Microsymposium on signal transduction*” in *IUCr General Assembly*, Madrid, Spain, Aug. 24 (2011).
- 7) Structural analyses of mouse MD-1 protein complexed with endogenous phospholipid. Ohto, U., Harada, H. and Satow, Y., *IUCr General assembly*, Madrid, Spain, Aug. 24 (2011).
- 8) Structural cell biochemistry of a novel histone fold vertebrate kinetochore complex. Nishino, T. *Gordon conference on Chromosome dynamics*. Vermont, USA, July 12 (2011).

7. 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。

研究組織

研究項目A01-A03毎の3つの研究班を組織して、それぞれに計画研究の代表者（2-3名ずつ）を配置した。計画研究の代表者は、構造生物学の基盤技術の専門家であり、研究班横断的にアドバイスや共同研究ができるように方法論の連絡会や討論会（公開シンポジウムを含む）で方法論の共有を図った。各研究班には公募研究の班員も加わり、各班間の情報交換も毎年のも全体会議（全員の成果等報告会）で促進した。

連携状況

本領域研究では、「3. 研究領域の目的及び概要」の項でも述べたように、3つの研究項目 A01～A03 を縦糸として、公募研究では、構造生物学的な展開を目指す分子細胞生物学、生化学、植物学、分子医学等の研究者の提案を取り入れて、各研究項目の中で広い分野にわたって課題を設定している。一方、計画研究の構成員には、構造生物学の方法論（X線結晶構造解析、シンクロトロン放射光、電顕、NMR、物性・相互作用解析、タンパク質工学・組換えタンパク質生成技術等）の専門家を配しており、各研究課題での

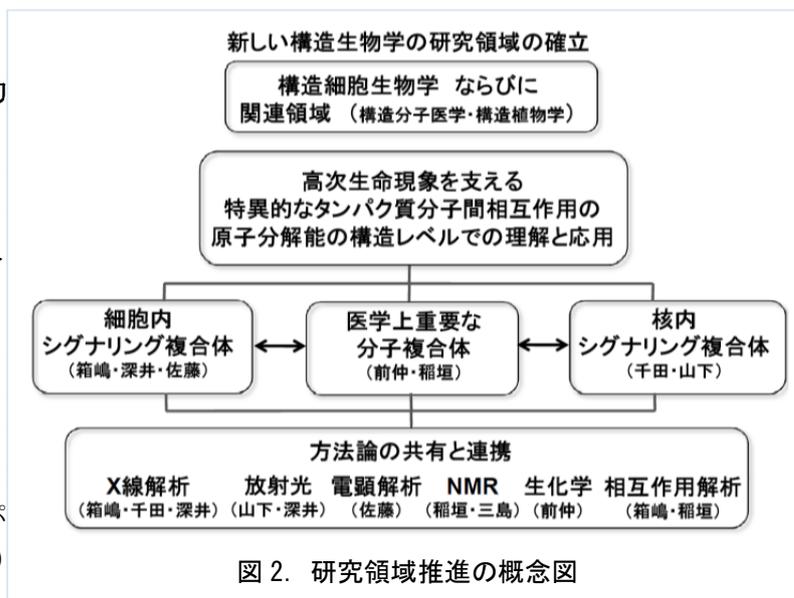


図 2. 研究領域推進の概念図

技術的困難等の解決のために連携を横糸として、全体の研究を推進するという組織の設計をしている。この方法論での連携や有効な手法の共有は本領域の成否を決めると考えるので、方法論のシニアな研究者も、連携研究者の総括班評価者として参画した。この体制は上手く機能して、密な共同研究のみならず、連携あるいは協力関係、情報交換と言った弱いものも含めて、極めて多くの交流がある。領域全体の会議（報告会）や年に2-3回の方法論連絡会を関連学会のシンポジウムやワークショップ等では、タンパク質の発現・精製、結晶化あるいは構造解析においての問題点や技術的な困難についての報告に対して、複数の適切なアドバイスや問題解決のヒントが提供されており、大抵の実験上の困難に対しては誰かがアドバイスできるようになっており、良い「研究コミュニティー」をつくることができた。現在、これらの成果を基に班員を中心とした執筆者による英文の教科書「*Advanced Methods in Structural Biology*」(Springer社)を作成中であり、近日中に発売される予定である。

連携や協力関係で際立って件数が多いのは、

- | | |
|----------------------|------------------------------|
| 1. 前仲・北大薬 (A03) | カイコ等特殊なタンパク質発現系の提供・指導 |
| 2. 佐藤および三尾・産総研 (A01) | 電顕による一粒子解析 |
| 3. 稲垣：北大先端生命 (A03) | ナノディスクを用いた膜タンパク質や脂質の相互作用解析 |
| 4. 内山・阪大工 (A02) | HD 交換等による分子相互作用面の解析と分析用超遠心解析 |
| 5. 山下・阪大蛋白研 (A01) | 微小結晶の X 線強度データ収集 |

等である。

新たな手法として、佐藤・産総研 (A01) が開発した生細胞を直接可視化できる電子顕微鏡 ASEM による成果があがってきている。さらに、標的蛋白質の重原子置換体結晶を必要としない硫黄原子を利用した S-SAD 法による構造決定が千田・高エネ機構 (A02) の指導のもとで推進されている。X線回折能が弱い巨大な複合体結晶からの効率的なデータ収集について、巨大粒子ボルトを対象として放射光測定法の改良を進めた (山下・阪大 (A02) と田中・阪大 (A01) との連携)。熊坂・高輝度光科学研 (A02) の開発した特殊な結晶凍結法を用いてプロテアソーム因子の解析に成功した (水島・兵庫県立大 (A03))。前仲・北大 (A03) らのサポートによる等温滴定型カロリーメトリーや表面プラズモン共鳴解析も浸透してきた。

共同研究一覧

- 1) 深井-植村 シナプス形成における GluR δ 2-Cbln1-NRXN 三者複合体の構造・機能の研究
- 2) 深井-前仲 ヒト培養細胞での発現、糖鎖修飾の制御、等温滴定型カロリメトリー
- 3) 深井-稲垣 ナノディスクを利用した相互作用解析
- 4) 深井-白川 RalGAP-Ral GTPase 複合体の構造・機能の研究
- 5) 深井-箱嶋 センサーチップへの固定化法
- 6) 佐藤-黒河 酸化ストレスセンサーKeap1 の研究
- 7) 伊東-前仲 哺乳動物細胞での発現方法
- 8) 伊東-寺脇 R-Rex1 の発現・調製の方法
- 9) 伊東-箱嶋 三量体 GTPase の細胞質 GEF Ric-8 の研究
- 10) 海野-内山 S100A3 の翻訳後修飾と修飾酵素の探索
- 11) 熊坂-水島 HAG 法による結晶凍結
- 12) 楠木-坂本 肝炎ウイルスタンパク質 NS5A の RNA アプタマーの研究
- 13) 佐藤 (匡) -水島 プロテアソーム形成および活性化因子
- 14) 佐藤 (匡) -長江 C型レクチン受容体
- 15) 三島-箱嶋、前仲 カイコ個体を用いた活性化型の PKB のキナーゼドメインの発現
- 16) 三島-石崎 hDia-Anilin 複合体の構造解析
- 17) 三島-稲垣 ナノディスクを利用した相互作用解析
- 18) 三尾-前仲 免疫系表面受容体タンパク質の電子顕微鏡解析
- 19) 三尾-佐藤 (主) SecDF タンパク質の電子顕微鏡解析
- 20) 山本-嶋田 蛋白質のリンカーを用いた構造解析の手法
- 21) 寺脇-柴田 Wnt シグナル伝達の構造解析、生化学 (DIX ドメイン)
- 22) 内山-松村 複合体の構成比の決定
- 23) 内山-佐藤 プロテアソーム複合体の構成比の決定
- 24) 内山-前仲 プロテアソーム複合体の構成比の決定
- 25) 内山-大戸 TLR 複合体の構成比の決定
- 26) 内山-禾 超遠心分析を用いた蛋白質間相互作用解析
- 27) 石森-稲垣 巨大分子量 NMR 測定やそのデータ解析および NMR 測定用試料調製について情報交換
- 28) 石森-大澤 巨大分子量 NMR 測定におけるパルスシーケンスやそのデータ解析について情報交換
- 29) 石森-内山 超遠心法を用いた蛋白質複合体の解析に関する情報交換
- 30) 村瀬-箱嶋 自家不和合性に関与するタンパク質の構造解析
- 31) 村瀬-佐藤 (主) 植物不和合性受容体の ASEM による観察
- 32) 村瀬-前仲 植物不和合性受容体 SRK の発現
- 33) 村瀬-三島 植物不和合性受容体 SRK-SP11 複合体の NMR 解析
- 34) 長江-千田 S-SAD による構造決定
- 35) 田中-山下 回折データ測定
- 36) 嶋田-内田 等温滴定型カロリメトリー、水素-重水素交換質量分析について情報交換
- 37) 西野-前仲 セントロメアタンパク質間相互作用の等温滴定型カロリメトリー
- 38) 西野-深井 等温滴定型カロリメトリーおよび表面プラズモン共鳴解析
- 39) 前仲-佐藤 難結晶性の免疫細胞表面蛋白質の電子顕微鏡による構造観察
- 40) 北所-大澤 パスツレラ毒素 C-PMT によって脱アミド化反応を受ける Gai3 タンパク質
- 41) 稲垣-竹内-上田 高分解能 NMR スペクトル再構成法の開発
- 42) 佐藤-千田-箱嶋 難結晶化タンパク質の結晶化の改善や結晶化スクリーニングの効率化・迅速化

連携の成果例：

A02 班 西野・東京理科大：北大薬学の創薬化学研究教育センターにて（前仲：A03 計画班）、タンパク質—タンパク質相互作用解析を等温滴定型カロリメトリー装置で行い、本実験は論文の「revise」に重要な測定であった（Nishino *et al.*, *EMBO J.* 2013）。

A02 班 沼田・産総研：A01 計画班の佐藤・産総研と共同研究を進めて、Cmr Δ 1 や Csm3-Csm4 複合体の結晶構造を、既に報告されていた Cmr 複合体や Csm 複合体の電顕像にフィッティングした。その結果を含めて論文として発表した（Osawa *et al.*, *Molecular Cell*, 2015; Numata *et al.*, *J. Mol. Biol.*, 2015）。

A02 班 内山・阪大：A03 公募班の大戸・東大と自然免疫タンパク質について共同研究を行い、その成果を論文として発表した（Ohto *et al.*, *Nature* 2015）。

8. 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。

全班員に関係の深い設備としては、**高精度高速試料回転軸**（神津精機社製 QKSU-0、平成 23 年度 1,081 万円：山下）であり、**SPring-8** の阪大蛋白研放射光ビームライン BL44XU に設置して、ユーザーに解放されている。本新学術領域研究内の研究グループの X 線回折実験でマシンタイム中は常時稼働しており、特に、微小結晶には威力を発揮している。使いやすさの評判も高く、研究の推進に大いに寄与している。極めて投資効率の高い買い物となった。

件数の多かった備品としては、4 台の**クロマトグラフィーシステム**（AKTA purifier、約 500~750 万円：箱嶋・深井・千田・前仲、初年度（平成 22 年度））があるが、これはプログラミングして（半）自動化が可能であり、各研究室のタンパク質試料の調製でフル稼働している。

分子間相互作用の解析機器としては、**等温滴定型カロリメータ**（Microcal 社製 ITC₂₀₀、平成 22 年度 34,650 千円：箱嶋）と**表面プラズモン共鳴（SPR）分子間相互作用解析装置**（GE ヘルスケア社製 BiacoreT100、平成 22 年度 38,850 千円：深井、および BIAcore 2000 EcoRepro、平成 23 年度 7,350 千円：前仲）を導入した。前者は、 α -catenin と vinculin、D14 とストリゴラクトン誘導体、D14L とカリキン誘導体等の相互作用の定量的解析に多用しており、予約制でほぼ毎日稼働している。後者は、GET 複合体中の分子間相互作用の定量的解析や GDF に対するモノクローナル抗体のスクリーニングや、細胞表面受容体の持つ難しい結合解析に多用しており、研究の推進に大いに寄与している。

その他では、**自動微量結晶化装置**（TTP LabTech 社製 Mosquito 2-way、平成 22 年度 13,725 千円：深井）は、迅速かつ高効率な結晶化スクリーニングに大変役立っており、とりわけ、大量に調製することの困難なサンプルでは必要不可欠な装置となっている。いずれも、ほぼ毎日稼働しており、研究の推進に大いに寄与している。

円二色性分散計システム（J-820/日本分光、平成 22 年度 13,650 千円：千田）は、タンパク質の二次構造解析に利用している。本装置を用いて精製タンパク質、特にドメイン単位で発現させたタンパク質が正しくフォールドしているかどうかを確認している。個々のタンパク質の活性を測定するのが難しいクロマチン因子の発現実験においては必要不可欠な装置である。

二波長近赤外蛍光対応スキャナータイプ画像解析装置（Odyssey/Li-Cor、平成 22 年度 7,182 千円：千田）は、一度に二種類の抗体を検出できるシステムである。3 者以上の複合体の形成を調べる際には極めて有効で、HIRA などの相互作用活性の検出に利用しており、週に 1-2 回は稼働している。

共焦点スキャヌユニット（横河電機、平成 23 年度 4,494 千円：佐藤主税）は、細胞の蛍光観察用で、共用の予約制でほぼ毎日稼働している。

高機能高速冷却遠心機（Avanti HP-26XP、平成 22 年度 4,242 千円：前仲）はタンパク質試料の大量調製にほぼ毎日稼働しており大変貢献している。

マルチラベルプレートリーダー（パーキンエルマー社 Envision、平成 24 年度 9,100 千円：深井）は、蛍光基質をもちいたヌクレオチド交換アッセイなどの活性測定や蛍光偏光を利用したタンパク質間相互作用解析などに利用した。96 穴あるいは 384 穴プレートを利用した測定により複数条件での測定を迅速に行うことが可能で、研究の効率化に大いに貢献した。平均して週に 1-2 回の頻度で稼働している。

多角度レーザー光散乱検出器（Wyatt Technology 社 Dawn Heleos II+8、平成 26 年度 12,000 千円：深井）は、タンパク質試料の分子量を測定して会合状態を解析するのに利用した。シナプス形成受容体の会合状態の測定結果は、下流シグナルの伝達機構を考える上で重要な情報を提供した。結晶構造解析や電子顕微鏡解析を行う試料の適性評価にも貢献した。平均して週に 1-2 回の頻度で稼働している。

設備費以外の用途としては、オープンファシリティー NMR 装置の使用料（稲垣・北大）や SPring8 と高エネ機構への回折実験のための旅費等の構造解析に取って必須の費用として使用している。さらに、著名な国際学会への参加のための旅費や海外から NMR 構造解析専門家複数名の招聘費用等にも使用し、グローバルな視点からの構造細胞生物学の推進に寄与することが期待できるものとなっている。他に、計画研究では、博士研究員・技術員・事務補佐員の雇用と消耗品費が大半を占めており、公募研究では、ほぼ全ての研究費は消耗品費に当てられている。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細(計画研究において購入した主要な物品(設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。)について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価(円)	金額(円)	設置(使用)研究機関
2 2	分子間相互作用解析装置	GE ヘルスケア社 Biacore T100	1	39,000,000	39,000,000	東京大学
	超高感度等温滴定型カロリメータシステム	英国 GE ヘルスケア社製・iTC200	1	34,650,000	34,650,000	奈良先端科学技術大学院大学
	円二色性分散計システム	日本分光, J-820	1	13,650,000	13,650,000	産業技術総合研究所(高エネ機構に移管)
	自動微量結晶化装置	TTP Lab Tech 社 Mosquito 2-way	1	13,000,000	13,000,000	東京大学
	蛋白質精製クロマト装置	GE, AKTA Purifier 10	1	8,589,000	8,589,000	産業技術総合研究所(高エネ機構に移管)
	タンパク質精製クロマトグラフィーシステム (Frac-950 含む)	英国 GE ヘルスケア社製・AKTA purifire100 ベースシステム	1	7,520,000	7,520,000	奈良先端科学技術大学院大学
2 3	エアベアリング回転ステージ	神津精機(株)	1	10,815,000	10,815,000	大阪大学
2 4	膜蛋白質結晶化用 ナノリッター分注システム mosquito	QKSU-0 英国 TTP LABTECH 社製・ LCP-H	1	21,000,000	21,000,000	奈良先端科学技術大学院大学
	マルチラベルプレートリーダー	パーキンエルマー社 Envision	1	9,100,000	9,100,000	東京大学
2 6	多角度レーザー光散乱検出器	Wyatt Technology 社 Dawn Heleos II+8	1	12,000,000	12,000,000	東京大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別 (2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成 22 年度】

通常の研究活動に必要な費用として使用し、特筆すべき支出は無かった。

【平成 23 年度】

・旅費

通常の研究活動に必要な費用として使用し、特筆すべき支出は無かった。

・人件費・謝金

研究支援員給与 10,444,000 円 (奈良先端科学技術大学院大学 計画班) 研究推進を図るために、大学院生加えて、博士研究員・研究員・技術員を雇用して、研究チームをつくった。

・その他

通常の研究活動に必要な費用として使用し、特筆すべき支出は無かった。

【平成 24 年度】

・旅費

班会議 (奈良～箱根) 12 名 519,000 円 (奈良先端科学技術大学院大学 計画班) 本領域の最先端成果の情報収集と大学院生を含む若手班員間の交流を促進した。

オックスフォード大学研究打合せ及び 6th INTERNATIONAL CONFERENCE ON HLA-G 学会出席 (札幌～ヨーロッパ) 1 名 440,000 円 (北海道大学 前仲) オックスフォード大学の Bowness 教授らと生体防御に関わる免疫受容体のシグナル検知機構に関する研究打合せ、および学会での情報収集を行った。

・人件費・謝金

研究支援員給与 13,910,000 円 (奈良先端科学技術大学院大学 計画班) 研究推進を図るために、大学院生加えて、博士研究員・研究員・技術員を雇用して、研究チームをつくった。

研究支援員給与 10,017,000 円 (北海道大学 稲垣) 研究推進を図るために、博士研究員 2 名を雇用して、当該新学術研究を推進するための研究チームをつくった。

研究支援員給与 8,692,000 円 (北海道大学 前仲) 研究推進を図るために、博士研究員・技術員を雇用して、研究チームをつくった。

・その他

NMR オープンファシリティ 使用料 2,515,000 円 (北海道大学 稲垣) 北大先端 NMR オープンファシリティの 800 MHz NMR 装置 2 台の使用料として使用した。Agilent 社製の 1 時間当たりの単価は 2,700 円であり、931 時間の使用料に対応する。新学術研究を推進するために必要な NMR 測定を行った。

【平成 25 年度】

・旅費

通常の研究活動に必要な費用として使用し、特筆すべき支出は無かった。

・人件費・謝金

研究支援員給与 12,125,000 円 (奈良先端科学技術大学院大学 計画班) 研究推進を図るために、大学院生加えて、博士研究員・研究員・技術員を雇用して、研究チームをつくった。

研究員給与 9,400,000 円 (高エネルギー加速器研究機構 千田) 研究推進を図るために、博士研究員を雇用して、研究チームをつくった。

・その他

NMR 測定装置 使用料 6,156,000 円 (北海道大学 稲垣) 平成 25 年度と同様に北大先端 NMR オープンファシリティの 800 MHz NMR 装置 2 台の使用料として 2,280 時間の使用料に対応する。新学術研究を推進するために必要な NMR 測定を行った。

装置修理 1,810,714 円 (高エネルギー加速器研究機構 千田) 大量培養実験に必須となる超純水製造装置 3 台について、経年劣化により故障した消耗品(水位検出センサー・UV 殺菌灯・制御ボード)の修理・交換をおこなった。

つくば第 6 共通電顕機器使用料 1,085,000 円(産業技術総合研究所 佐藤) 研究を加速するために、より高効率に撮影できる共用機器の電子顕微鏡を使用した。

【平成 26 年度】

・旅費

第 5 回日台 NMR シンポジウム参加(14 名) 805,000 円(北海道大学 稲垣) 台湾の NMR 研究者 14 名の国内旅費と滞在費を支援し、国内研究者と最新の NMR 研究の結果について討議した。ナノディスク等 NMR 技術に関する発表が多く、有益な情報を収集することができた。この情報は新学術研究に生かされた。

Microscopy & Microanalysis 2014 出席(つくば～アメリカ) 2 名 711,000 円(産業技術総合研究所 佐藤) 本プロジェクトによって、組織レベルや特殊な神経細胞でも水中で高分解能撮影が可能になった。組織・細胞レベルでの他のシグナル複合体研究への応用や臨床迅速診断への展開が期待される重要な topic なので、学会発表を 2 題行った。

SPring-8 X線結晶解析(札幌～播磨)のべ7名 711,000円(北海道大学 前仲) 免疫系受容体等の結晶を作製し、SPring8の高輝度ビームラインで回折測定実験をおこない、構造決定に成功する成果をあげることができた。

・人件費・謝金

研究員給与 9,360,000 円(高エネルギー加速器研究機構 千田) 研究推進を図るために、博士研究員を雇用して、研究チームをつくった。

・その他

NMR 測定装置 使用料 5,624,000 円(北海道大学 稲垣) 平成 25 年度末に 1 台の Agilent 社製 NMR 装置を Bruker 社製 800MHzNMR に更新した。Agilent 社製 NMR 装置の 1 時間当たりの単価は 2,700 円、Bruker 社製 NMR 装置の 1 時間当たりの単価は 2,200 円であり、それぞれ 975 時間、1,360 時間を使用した。新学術研究を推進するために必要な NMR 測定を行った。

(3) 最終年度(平成 26 年度)の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

計画研究 1

本新学術領域研究の一つの柱として、植物のシグナル伝達を制御する植物に特異的で重要な制御タンパク質として GRAS タンパク質の構造研究を進めてきた。平成 26 年は研究の終盤であり、論文投稿を目指して最後の構造解析を進めていた。しかし同年 11 月には、構造解析の結果得られた電子密度に予期しなかった不明瞭な部分があり、種々の検討の結果、構造解析に使用した複合体結晶の X 線データの改善なくしては論文発表に耐える構造には至らない可能性が出てきた。そこで、現在使用している試料タンパク質のコンストラクトを若干変える目的で、ホモログタンパク質等で、同様の実験・解析を試みる必要が出てきた。そのために、予定した試料に追加して、異なったコンストラクトの試料やホモログタンパク質由来の試料の精製実験・結晶化実験とデータ収集、構造解析、そして最終構造の検討を実施する繰越しを行った。

9. 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。

本新学術領域研究では、シグナル伝達に関わるタンパク質の形成する制御複合体の構造決定を通して、複合体構造形成と機能制御のメカニズムを原子分解能で記述することで分子レベルの生命科学研究をより厳密で精緻なレベルに押し上げることを目指した。その達成のために、結晶構造解析、NMR、電子顕微鏡などの構造解析技術の高度化とこれらの技術を有機的に組み合わせて、静的・動的や *in vitro*–*in vivo* のように相反する、あるいは、高精度–高分子量のように両立の難しい特徴を相互に補完するような解析を進展させた。

A01 項目では、細胞の力学応答 (α -catenin と vinculin 複合体)、植物ホルモンシグナリング (ストリゴラクトンおよびカリキンの受容体複合体)、膜タンパク質の埋め込み (GET 複合体)、サリドマイド関連シグナリング (cerebron 複合体)、神経シナプスの形成 (シナプス形成受容体複合体) などで最先端の分子機構を明らかにした。構造を基盤とする分子機構の理解は、未同定・未確定の下流シグナルの探索 (植物ホルモンシグナリングやサリドマイド関連シグナリングにおけるユビキチンリガーゼの役割など) から、**細胞や組織レベルでの発展的理解** (細胞間に働く力と形態形成との関係、選択的なシナプス形成と神経回路との関係など) へと波及することで、**単なる分子機能の解釈という枠組みを超えて、分子・細胞機能の発見へと向かう新たな潮流を生み出す原動力**となる。

A02 項目では、核内の分子機構としては、DNA 複製から複製された DNA の分配に対する一連の過程に関係する複合体が複数決定された。一部は真核生物、一部は原核生物の複合体となっており、いまだ一連の分子過程の複合体の構造が完全に決定されているわけではないが、DNA 複製から DNA 分配に至る分子過程に関して、幾つかの重要な複合体構造が決定されて、これらをもとに生物学的な実験がなされるようになったことは大きな進歩で、今後の分野の進歩の基盤となる結果であると考えられる。また、近年応用の進んでいる CRISPR システムに関して、タイプ III エフェクター複合体の結晶構造を決定することができた。今回構造を決定した Cmr 複合体は、任意のガイド配列を持った crRNA と結合できるため、様々な標的 RNA を補足して分解することができる。この複合体が働く仕組みを解明したことは、部位特異的に RNA を切断する新たな分子装置の設計へと道を開くもので、遺伝子発現を人為的に操作する新しい技術の開発につながると考えられる。核内輸送に関して、核内輸送に関わる複合体だけではなく、核から運び出す方向の複合体の構造解析にも着手して、それらの構造を決定することができた。このことで、核と細胞質の分子のやりとりに関して、基本的な複合体の分子基盤を確立することができ、今後の研究の基盤とすることができたと考えている。方法論的には、不安定かつ複雑な複合体の出芽酵母からの精製パイプラインを確立したことは、今後の複合体構造解析の重要な一歩になると考えている。本プロジェクトにおいては、このパイプラインを使って TFIID などの転写基本因子、Pol II、CAF-I などの高分子量型のヒストンシャペロン複合体、さらには poly A 鎖付加に関する CPSF などの複合体を高い精製度で調製することに成功しているとともに、すでに電子顕微鏡を使った解析にも着手している。

A03 項目では、医学的に重要なターゲットを中心に取り組み、免疫関連の細胞表面受容体に関して、LPS や核酸を認識する Toll-like receptor (TLR) 群、糖脂質アジュバントを認識する Mincle などのシグナル上流で制御する巧妙なシステム解明で成果を挙げることができた。更に、免疫系細胞内シグナルとして CBL のリン酸化制御機構の新たなモデル提唱まで進んだ。感染症関連に関しては、麻疹ウイルス受容体結合糖タンパク質 MV-H を介する細胞侵入機構、赤痢菌病原因子と宿主因子の相互作用の構造決定に成功するとともに、各種毒素の機能解明に迫る構造解析として、宿主シグナル伝達を制御するパスツレラ毒素や ADP リボシル化毒素等で成果があがった。このように免疫や感染症分野に重要な知見を与え、更なる**精密な機構モデルの提唱**に繋がり、**創薬開発**にまで進む方向となってきた。既に、一部のターゲットについては、東京大学創薬機構の化合物ライブラリーを用いてヒット化合物の同定まで進んでおり、社会への還元をアピール可能な状態になりつつある。

方法論としては、電子顕微鏡の単粒子解析技術の高度化 (自動化・高精度化) を行うとともに、大気圧電子顕微鏡 (ASEM) による μm オーダーの微小結晶の検出や細胞微細構造の高分解能観察 (8 nm 分解能) を可能にした。また新規の結晶凍結法により、これまで凍結困難であった結晶の測定が可能となった。また、SPRING-8 の BL44XU における安定なマイクロビームの達成は、大きな結晶を作りにくい高難度複合体

の結晶構造解析に大きな貢献をされると考えられる。また、医学的観点のヒトタンパク質等は、大腸菌での発現が難しい。これらに対して、糖鎖均一修飾可能なヒト培養細胞やカイコ個体を用いた発現系を開発するなど技術的な成果も大きく、構造生物学にとどまらず、広くライフサイエンス研究にインパクトを与える。

まとめ

本新学術領域「構造細胞生物学」の採択時の3つの類型との関係で総括する。

「■(2)異なる学問分野の研究者が連携して行う共同研究等の推進により、当該研究領域の発展を目指すもの。」

複合体構造研究における各律速段階での困難を克服するには、専門的な知識や経験・技術が必要である。そこで、計画研究には複合体構造研究で実績ある専門家を配して基盤技術や手法を充実した。一方、公募研究では様々な生物・医学分野の研究者の参画を図り、分子生物学、細胞生物学、生化学、生物工学、医科学等の多くの領域の研究者が参画した。その結果、構造生物学を専門とする計画班員と各生物学領域の研究者との連携の下に成果を得た（7. 研究組織（公募研究を含む）と各研究項目の連携状況参照）。

「■(3)多様な研究者による新たな視点や手法による共同研究等の推進により、当該研究領域の新たな展開を目指すもの。」

計画研究の班員を中心とした基盤技術や手法は多様多彩であるが、およそタンパク質の構造研究に有効なものには全て揃えてあり、各研究課題の研究者が、アドバイスを受けたり、連携や共同で研究が進められたりする研究コミュニティを形成した。また、様々な生物学領域からの参画で、生物学からのアドバイス等も有用で功を奏しているケースもある。このような手法の連携に加えて重要な点は、連携を通して生物現象の考え方が豊かになることである。各分野の専門家の理解の仕方は、得意とする手法に大きく依存する。タンパク質やその機能の理解の仕方も、構造生物学あるいはタンパク質科学の中でも異なるし、これに、分子生物学、細胞生物学、生化学や医科学の専門家が加わると、「証明されたこと」の共通認識は極めて曖昧になる。本研究領域では、「機能している現場」をシグナリング複合体として捉えることにこだわって研究を展開することで、複雑なシグナル伝達制御でも、分子の実像を思い浮かべながら、分子機構を理解することを共通認識として、構造に基づいた相互作用の記述を共通言語とすることができた。

「■(4)当該領域の研究の発展が他の研究領域の研究の発展に大きな波及効果をもたらすもの。」

受容体によるシグナルの選択的検知や、種々の酵素の特異性や活性の制御が鍵となる現象では、複合体構造は決定的な解答を提供することになる。シグナル伝達や応答を制御する「on-off」のスイッチの動作を分子構造として理解して、定量的な特性をメカニズムとともに記述することはサイエンスとして極めて重要である。「on-off」と言っても、分子レベルでは「all-or-none」的な変換は実際には少なく、線形であったり、協同性の強い sigmoid であったり、あるいは非線形であったり、複数の因子が独立であったり、加算的であったりする。このような相互作用の特性は構造無しで理解することは難しい。構造に関する知識は、制御系の定量的で機械論的な理解や定式化には必要不可欠である。今後、生物研究の主流が、更に精密な解析、例えば、制御回路をシミュレーションしながら、細胞組織・器官あるいは個体の応答・動作等の動態を理解しようとするレベルに到達した時には、素過程が分子構造レベルでわかっているか、わかっていないかが決定的に重要になる。全て「all-or-none」的なスイッチ機構で組んだシミュレーションは上手いかないことが既にわかっている。スイッチ特性の理解は構造を通してのみ可能である。

構造に関する詳細な情報は、例えば、薬物設計等で有用であることはよく理解されている。しかし、もっと一般的に、構造の知識は、複雑な生物を解析する「新しい道具」の開発を促進するという意味でもっと重要であると考えている。生物の研究対象として扱う系がどんどん複雑になれば、それなりの道具が必要である。現在、GFPを使ったイメージングは必要不可欠な道具となっているが、新しいタンパク質分子、例えば、細胞間に働く張力の可視的なレポータータンパク質（形態形成の解析に有用）等、が生まれる苗床として構造生物学が発展すれば、その波及効果は計り知れない。

10. 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。

班会議への若手研究者の積極的な参加を促し、最先端研究の取り組みの理解と自身の研究への反映を促した。さらに方法連絡会や学会ワークショップ等で若手研究者の講演を組み込み、経験を積むと同時にポジション獲得へのアピールの場を提供する努力を継続した。その結果、以下のように多数の若手共研究者のポストの獲得や昇任へと繋がった（合計 24 件）。

教授への昇任 9 件

- 1) 千田： 産業技術総合研究所・バイオメディシナル情報研究センター・主任研究員から、高エネルギー加速器研究機構の物質構造科学研究所の教授（構造生物学研究センター長）として赴任した（平成 25 年 1 月）。
- 2) 大澤： 東京大学大学院薬学系研究科・助教から同・講師に昇任し（平成 25 年 8 月）、更に、慶應大学薬学部教授として赴任した（平成 27 年 4 月）。
- 3) 橋本： 横浜市立大学准教授から静岡県立大学教授に着任した（平成 25 年 4 月）。
- 4) 海野： 茨城大学・フロンティア応用原子科学研究センター准教授から茨城大学大学院理工学研究科・応用粒子線科学専攻の教授に昇任した（平成 25 年 4 月）。
- 5) 松村： 大阪大学准教授から立命館大学生命科学部の教授として赴任した（平成 27 年 4 月）。
- 6) 坂本： 千葉工業大学工学部の教授に昇任した（平成 26 年 4 月）。
- 7) 石崎： 京都大学大学院医学研究科准教授より大分大学医学部教授に着任した（平成 25 年 2 月）。
- 8) 堅田： 連携研究者の紺谷圏二准教授が、明治薬科大学・薬学部の生化学教室・教授として赴任した（平成 27 年 4 月）。
- 9) 伊東： 准教授が青森大学薬学部の教授に昇任して転出した（平成 25 年 4 月）。

准教授・講師・主任研究員等への昇任 15 件

- 10) 西野： 遺伝研助教から東京理科大学基礎工学部の准教授として着任した（平成 27 年 4 月）。
- 11) 沼田： 産総研・任期付研究員から主任研究員へと昇進した（平成 24 年 4 月）。
- 12) 内山： 大阪大学工学研究科助教から同准教授へと昇任した（平成 24 年 2 月）。
- 13) 禾： 阪大蛋白研助教から、横浜市立大学に准教授として赴任した（平成 23 年 4 月）。
- 14) 植村： 信州大学医学部講師から准教授に昇任した（平成 26 年 4 月）。
- 15) 熊坂： 研究代表者の熊坂が新設されたタンパク質結晶解析推進室の室長代理に昇任した（平成 26 年 4 月）。
- 16) 堅田： 連携研究者であった福山征光助教が講師に昇任した（平成 27 年 4 月）。
- 17) 竹内： 産業技術総合研究所の任期付から、任期のない主任研究員となった（平成 26 年 4 月）。
- 18) 前田： 先端医療振興財団の研究員から、主任研究員に昇任して独立した（平成 26 年 4 月）。
- 19) 大戸： 東京大学大学院薬学系研究科助教から講師に昇任した（平成 25 年 12 月）。
- 20) 佐藤（匡）： JST・戦略的創造研究推進事業（さきがけ）の「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」の研究員を兼任している（平成 25 年 10 月）。
- 21) 上田： JST・戦略的創造研究推進事業（さきがけ）「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」の研究員を兼任している（平成 25 年 10 月）。
- 22) 寺脇： 兵庫県立大学大学院生命理学研究科特任助教から、群馬大学大学院工学研究科 助教として赴任した（平成 23 年 4 月）。
- 23) 山下： 本研究課題で平成 23 年度から雇用していた博士研究員が摂南大学薬学部の特任助教として職を得た（平成 27 年 4 月）。
- 24) 伊東： 助教が自治医科大の講師に昇任して転出した（平成 23 年 4 月）。

11. 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。

総括班評価者

月原富武	教授	兵庫県立大/阪大蛋白研	X線構造生物学
甲斐荘正恒	教授	名大理/首都大東京理/阪大蛋白研	NMR 構造生物学
吉田賢右	教授	京都産業大学・総合生命	タンパク質生化学
田中啓二	所長	東京都臨床医学総合研	生化学・医学
貝淵弘三	教授	名古屋大学・医	細胞生物学・医学
磯貝 彰	学長	奈良先端大	植物科学

月原富武（兵庫県立大学生命理学研究科・特任教授）

「タンパク質構造解析は 21 世紀初頭から急速に拡がり、本領域が発足した時点では生物学における汎用の手法になっていた。その結果、構造生物学は生物学・医学等との“一体化”を深めた。そうした中で本領域は、普遍性の高い生命現象である“シグナリング”を担う“複合体”の構造研究に正面から取り組むことにした。これは、2 つの側面で意義深い挑戦であった。ひとつは生物学・医学等にとって重要性の高い課題であること、もうひとつはタンパク質単体ではなく機能する複合体という構造解析における新しい方法への挑戦であった。

当初、目標を達成することは容易でないことを想定したが、本報告書 6 にあるように、“機能する複合体”の構造が数多く決定されてシグナル伝達の仕組みが解き明かされ、続々と著名な国際誌に掲載された。タンパク質単体を対象とする構造生物学に止まっていた段階から、複合体を対象にして生命現象の理解に迫ることが当たり前になるレベルになった。さらに、“機能する複合体”の中には一時的に複合体を形成するものもあり、今後重要になってくるこのトランジェントな複合体の構造研究も出てきた。

本領域の班会議、シンポジウム等で、シンクロトン放射 X 線、電子顕微鏡像解析、NMR 等の構造解析技術開発のみならず、タンパク質の発現・調製、複合体の調製と結晶化等の方法論について活発な意見交換を行った。若手を中心とした活発な研究交流が大きな成果をもたらしたと言っても過言でない。

以上、本領域は我が国の構造生物学のレベルを国際的にも高い水準にするのに大きく貢献したと言える。

一方、この分野の研究は欧米のみならずアジア諸国においても一層勢いを増して進展している。我が国においても、生物学領域と構造生物学領域の研究者が協同を一層密にすることが求められている。同時にこうした構造生物学の基礎研究への国家予算の導入にも尽力すべきである。」

甲斐荘正恒（名古屋大学理学研究科特任教授）

「資料拝読いたしました。幅広い分野と年齢にまたがる人材を縦横に結集し、素晴らしい成果を挙げられたと思います。特に若い年代の研究者の成果は質、量ともに極めて優れていると思われます。structural biology もこの数年は integrative structural biology としてより生物学的に重要な複雑系に変容してきましたが、本領域研究はそのながれを先取りした感があります。大きな目的は細胞シグナリング複合体の構造生物学的解明に向けられたものですが、今後この領域に加わって大きな刺激を受けた研究者が様々な分野の研究に携わり、日本における新しい構造生物学の潮流を生み出してくれることが期待できます。一方、世界的にみれば構造生物学の研究に不可欠な基盤技術面の高度な研究に関しても怠りなく進めております。次なる未知の飛躍にとっては既存の方法論の応用に留まらず、独創的な基盤技術を生み出すことも重要でしょう。」

「先週、上海の国立蛋白質科学研究所(National Center for Protein Science in Shanghai: NCPSS)で NMR 部門の立ち上げを記念した Workshop/Symposium に行ってきました。大変、立派な施設で感心しました。幅広い国際交流を含め、研究者の国際化も今後の重要な keyword となりますね。high-impact factor journal への論文掲載以上に国際的な学会で活躍できる若手人材の育成が大きな課題でしょう。」

吉田賢右（京都産業大学総合生命科学科特任教授）

「この新学術領域研究「構造細胞生物学」は、多くの重要なタンパク質あるいはその複合体の構造を決定することに成功し、質の高い論文を多く発表し、当初の目標を上回る成果をあげた」

田中 啓二（東京都医学総合研究所・所長・生化学）

「構造生物学は、我が国が世界に誇る生命科学の中心的な学術領域の一つである。また構造生物学は、学術として人類の知の発展に貢献するのみならず、創薬・食料生産をはじめとする有用な分子設計の基盤を提供することができる重要な学術分野である。しかも近年、構造解析技術が飛躍的に発展し、その結果として研究競合が激化の一途を辿っている状況でもある。通常、学術は個人研究が基軸であるが、構造解析研究はもはや個人の研究者が独自に研究を推進して世界を席卷するのが困難なほどに大きな規模の研究領域になっている。この世界の動向を背景に、我が国独自のグループ研究として新学術研究「構造細胞生物学」領域を立ち上げたことは、時宜にかなった戦略であり、協調的な研究組織の構築による相加的・相乗的効果が期待できる。本領域では、生命機能制御の根幹を成す細胞内シグナル複合体に焦点を当て、X 線解析、放射光、電顕解析、NMR などの異なった方法論を結集して全体目標の解明に迫るという優れた戦略を携え、高次生命現象を支えるタンパク質分子間の相互作用を原子分解能レベルで構造を解くことを狙って組織された。この目標達成のため、領域代表の強力なリーダーシップの下、計画班員が結集、公募研究とも効果的に連携して、学問の垣根を超えた数多くの共同研究が実施された。これまでの5年間の研究活動を通して、多数のインパクトの高い論文を発表し、世界を先導するような数多くの画期的な成果が得られており、研究は順調に進展したと考えられる。また、領域運営の面でも、毎年、総括班会議と領域全体会議を開催した他、多くのシンポジウム・ワークショップを定期的に行うと共に、班員間の日常的なコミュニケーションの場として、構造細胞生物学ニュースレターを50号以上発刊し、実験材料・技術や学術情報を共有して研究者間の情報交換・交流および共同研究を推進してきた。実際、多くの共同研究を具体的に実施するとともにその成果は優れた学術論文として発表された。これらの異なった技術による連携研究を通して、特に若手研究者たちに学ぶ機会を提供するなど、人材育成にも積極的に取り組んできた点は、特に高く評価される。本領域の活動を通して醸成された研究者間の相互理解や共同研究により、「構造細胞生物学」領域の学術的な発展が、世界的なレベルで十分に成されたものと評価する。」

貝淵弘三（名古屋大学医学研究科教授）

「報告書にも記載されているように、極めて多彩な分野でインパクトの高い成果が得られた。タンパク質の発現・調製、複合体の調製と結晶化等の方法論についても、領域内の連携を図り底上げに貢献した。ややもすれば大きな研究室が目立つ構造生物学の分野で、若手の成長を促し大きな成果をあげさせた。これらは、新学術領域としては理想的な展開であった。」

磯貝 彰（奈良先端科学技術大学院大学名誉教授）

「本領域では、タンパク質の構造解析を専門とする研究者を中心として、さらに、生物学を専門とする研究者を加え、タンパク質、特に、その分子複合体の構造解析の手法を確立すると共に、生物学的に重要なタンパク質およびその複合体の解析をすすめた。その結果、この分野で世界に誇りうる、多くの優れた研究成果をあげてきた。また、構造科学者と生物学者との多くの共同研究を推進し、生物現象を構造のレベルで理解するサイエンスを発展させてきた。さらに、この領域では、若い研究者が多く参画しており、多くの若手研究者が教授、准教授への昇任や新たなテニユアのポストを獲得することに成功している。

以上の成果を総合的に判断して、本領域の活動は、領域の目的を十二分に達成しており、そのなかで、日本の生物学、構造生物学の発展に大きく貢献してきたと判断し、きわめて高い評価を与えたい。領域代表者の努力を多としたい。」

<参考>

中間評価（2012年6月）時でのコメント

研究成果については、高インパクトの論文も出版され始めており、全体としては順調であるというという評価を得た（評価者全員）。

大きな成果が望める有望な結晶も様々な系で得られているので、成果に関して心配することはなく、「チャレンジングな研究」をじっくりと推進するようにとの助言もあった（月原）。

特に、他の新学術領域の評価等にも関わってきている評価者からは、本研究領域は若手研究者の参加が極めて多く、班会議等での報告や討論でも若手の活気あるアクティビティーが伝わってきて、人材育成と言う観点からは際立っており、若手が育っている研究組織になっているという評価を得ている（貝淵・甲斐荘・吉田）。また、サイエンスのレベルも高いという印象も頂いた（月原・甲斐荘）。

分野については、構造研究の方法論としては、NMRの研究者の数が少ないように思うという意見もあった（甲斐荘）。

構造生物学関連の国の動向についての情報提供等がなされるとともに、本新学術の立ち位置についての考えをまとめるようにとの助言があった（磯貝）。

最近、生命科学分野で2つのCREST、「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」（研究総括：田中啓二・東京都臨床医学総合研）と、「生命動態の理解と制御のための基盤技術の創出」（研究総括：山本雅・沖縄大学院/東京大学・医科研）が始まった。また、研究開発施設共用等促進費補助金（創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業）も開始された。これらは、本研究領域とも関連の深い研究領域を含んでおり、また、CRESTの研究総括等が本新学術領域の班員でもある。そこで、CREST「構造生命科学」とは、情報発信等、例えばシンポジウム等の共同開催等、で連携していきたい（田中）、との提言もあった。