

---

動的構造生命科学を拓く新発想測定技術  
－タンパク質が動作する姿を活写する－

---

領域番号：4602

平成年 26 度～平成 30 年度  
科学研究費助成事業（科学研究費補助金）  
（新学術領域研究（研究領域提案型））  
研究成果報告書

令和 2 年 6 月

領域代表者 神田 大輔  
九州大学・生体防御医学研究所・教授

はしがき

【目的】タンパク質は長い生物進化におけるランダムな変異と選択により、自発的に折れ畳んで一定の立体構造を持つ。一定の立体構造が複数のアミノ酸側鎖の安定な相対配置を実現することで、タンパク質分子はセンサー、触媒、モーター、そして構造体として極めて洗練された機能を持つ分子機械となるに至った。分子機械としてのタンパク質分子の機能発現のメカニズムを理解するには、立体構造を精密に決定することが必要である。得られた立体構造は基本的に静止画像であるが、紙芝居のように並べて説明することで、手のひらサイズの機械のように記述することを可能にし、多くの事実を説明することができた。この手法が大きな成功を取めたことから、構造生物学という学問分野が生まれた。しかし、構造生物学の既存の測定手法は、タンパク質の時間変化に十分に対処できていないという問題が残されている。本研究領域では、タンパク質分子が生きて動作している状態を、働いている現場 (in situ) で活写する測定方法の開発を独創的な発想に基づいて行うことを目指した。

【内容】タンパク質分子の3次元的な形の時間変化を知るには核磁気共鳴法(NMR)と原子間力顕微鏡(AFM)の2つの手法が適している。しかし、NMRとAFMを含む従来の測定技術では、「平均と分布の問題」と「インビトロ測定問題」を克服することは難しい。ここで、平均と分布の問題とは、安定状態においてはその動きが小さく意味のある平均構造をつくることできるが、過渡的な状態は動きが大きいため、平均構造を作ると歪んでしまうという問題である。したがって分布を正しく評価できる手法が必要である。2つ目のインビトロ測定問題とは試験管内のような人工的な環境における最安定構造と機能している現場である細胞内環境における活性型の構造が異なる可能性である。差異が生まれる原因として、他の分子との相互作用や分子クラウディング効果が想定される。解決のためには、細胞内にあるタンパク質の感度の良い選択的な測定が鍵になる。

本領域では「AFM装置の高速化と光学技術の融合」と「タンパク質結晶内に隙間をつくって運動性解析を行う」課題に挑戦して、平均と分布の問題の原理的解決を目指す。また、細胞環境などの現場において、タンパク質分子の動的構造変化を知る方法が必要となり、「インセルNMRの手法の高度化」と「ダイヤモンドナノ粒子の蛍光測定と電子スピン共鳴法を組み合わせた光検出磁気共鳴(ODMR)測定法」を開発することで、「インビトロ測定問題」の解決を目指す。新しい測定法はまったく新しい結果を与える。そのため、結果の正しさを検証する必要があり、計算機による分子動力学計算の結果と比較して検証を行う。新測定手法を特定の課題に集中的に適用することで測定手法の問題点や限界と潜在的な適用範囲を明らかにし、リスクの大きい革新的測定技術開発を短期間に達成する。

【研究班構成】2つの問題の解決のために、それぞれA01班「過渡的に形成されるタンパク質複合体の動的構造測定技術」とA02班「細胞環境下でのタンパク質分子の動的構造測定技術」をおき、検証のためにA03班「新規動的構造測定技術の検証と応用」を設置した。また、動的構造生命科学領域における海外ネットワーク形成を目指した支援活動を行うために、国際活動支援班を設置した。

研究組織

計画研究

領域代表者 神田 大輔 九州大学・生体防御医学研究所・教授

(総括班)

研究代表者	神田 大輔	九州大学・生体防御医学研究所・教授
研究分担者	安藤 敏夫	金沢大学・ナノ生命科学研究所・特任教授
研究分担者	白川 昌宏	京都大学・工学研究科・教授
研究分担者	西田 紀貴	東京大学・薬学系研究科・准教授
研究分担者	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員
研究分担者	塚崎 智也	奈良先端科技大・バイオサイエンス研究科・教授
連携研究者	甲斐荘正恒	首都大学東京・理学研究科・客員教授
連携研究者	Tama Florence	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授
連携研究者	阿久津秀雄	横浜市立大学・生命医科学研究科・客員教授
連携研究者	嶋田 一夫	東京大学・薬学系研究科・教授
連携研究者	西村 善文	横浜市立大学・生命医科学研究科・教授

(国際活動支援班)

研究代表者	神田 大輔	九州大学・生体防御医学研究所・教授
研究分担者	安藤 敏夫	金沢大学・ナノ生命科学研究所・特任教授
研究分担者	白川 昌宏	京都大学・工学研究科・教授
研究分担者	西田 紀貴	東京大学・薬学系研究科・准教授
研究分担者	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員
研究分担者	塚崎 智也	奈良先端科技大・バイオサイエンス研究科・教授
研究分担者	甲斐荘正恒	首都大学東京・理学研究科・客員教授
研究分担者	Tama Florence	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授

(計画研究)

(A01 班)

研究代表者	神田 大輔	九州大学・生体防御医学研究所・教授
研究代表者	安藤 敏夫	金沢大学・ナノ生命科学研究所・特任教授

(A02 班)

研究代表者	白川 昌宏	京都大学・工学研究科・教授
研究代表者	西田 紀貴	東京大学・薬学系研究科・准教授
研究分担者	甲斐荘正恒	首都大学東京・理学研究科・客員教授

(A03 班)

研究代表者	杉田 有治	国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員
研究分担者	Tama Florence	名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授
研究代表者	塚崎 智也	奈良先端科技大・バイオサイエンス研究科・教授

(公募研究)

第1期(平成27年~28年)

(A01班)

研究代表者	齋尾 智英	北海道大学・理学研究院科学部門・助教
研究代表者	鎌形 清人	東北大学・多元物質科学研究所・助教
研究代表者	奥村 正樹	東北大学・多元物質科学研究所・助教
研究代表者	矢島 潤一郎	東京大学・総合文化研究科・准教授
研究代表者	永田 崇	京都大学・エネルギー理工学研究所・准教授
研究代表者	水野 操	大阪大学・理学研究科・助教
研究代表者	菅 倫寛	岡山大学・自然科学研究科・助教
研究代表者	安永 卓生	九州工業大学・情報工学部・教授
研究代表者	柴山 修哉	自治医科大学・医学部・教授
研究代表者	横田 浩章	光産業創成大学院大学・光バイオ分野・准教授
研究代表者	藤岡 優子	公益財団法人微生物化学研究所・研究員
研究代表者	須河 光弘	東京大学・大学院総合文化研究科・助教

(A02班)

研究代表者	村田 昌之	東京大学・総合文化研究科・教授
研究代表者	渡邊 力也	東京大学・工学系研究科・講師
研究代表者	木内 泰	京都大学・医学研究科・准教授
研究代表者	朽尾 豪人	京都大学・理学研究科・教授
研究代表者	浜地 格	京都大学・工学研究科・教授
研究代表者	伊藤 隆	首都大学東京・理工学研究科・教授
研究代表者	岡本 憲二	独立行政法人理化学研究所・研究員

(A03班)

研究代表者	奥野 貴士	山形大学・理学部・准教授
研究代表者	清水 啓史	福井大学・医学部・講師
研究代表者	木村 泰久	京都大学・連合農学研究科・助教
研究代表者	南野 徹	大阪大学・生命機能研究科・准教授
研究代表者	末次 志郎	奈良先端科技大・バイオサイエンス研究科・教授

研究代表者	中迫 雅由	慶應義塾大学・理工学部物理学科・教授
研究代表者	香月 美穂	福岡大学・理学部・助教
研究代表者	古川 亜矢子*	横浜市立大学・生命医科学研究科・特任助教 (*産休にて1年延期)
研究代表者	杉本 宏	独立行政法人理化学研究所・研究員
研究代表者	重松 秀樹	独立行政法人理化学研究所・研究員

## 第2期(平成29年~30年)

### (A01班)

研究代表者	齋尾 智英	北海道大学・理学研究院・助教
研究代表者	奥村 正樹	東北大学・学際科学フロンティア研究所・助教
研究代表者	宮ノ入 洋平	大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究代表者	永田 崇	京都大学・エネルギー理工学研究所・准教授
研究代表者	木村 哲就	神戸大学・理学研究科・講師
研究代表者	菅 倫寛	岡山大学・異分野基礎科学研究所・准教授
研究代表者	横田 浩章	光産業創成大学院大学・光産業創成研究科 ・准教授
研究代表者	広瀬 恵子	産業技術総合研究所・バイオメディカル 研究部門・主任研究員

### (A02班)

研究代表者	中村 彰彦	自然科学研究機構・岡崎統合バイオサイエンス センター・助教
研究代表者	中林 孝和	東北大学・薬学研究科・教授
研究代表者	村田 昌之	東京大学・総合文化研究科・教授
研究代表者	渡邊 力也	理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員
研究代表者	安部 聡	東京工業大学・生命理工学院・助教
研究代表者	児嶋 長次郎	横浜国立大学・工学研究院・教授
研究代表者	WONG W・R	金沢大学・新学術創成研究機構・教授
研究代表者	森 博幸	京都大学ウイルス・再生医科学研究所・准教授
研究代表者	西山 雅祥	近畿大学・理工学部理学科・准教授
研究代表者	伊藤 隆	首都大学東京・理学研究科・教授
研究代表者	井手 隆広	理化学研究所・多細胞システム形成研究センター (CDB)・研究員

### (A03班)

研究代表者	清水 啓史	福井大学・医学部・講師
研究代表者	古郡 麻子	大阪大学・蛋白質研究所・准教授
研究代表者	三島 正規	首都大学東京・理学研究科・准教授
研究代表者	矢木 宏和	名古屋市立大学・薬学研究科・講師

研究代表者	中迫 雅由	慶應義塾大学・理工学部・教授
研究代表者	谷中 冴子	自然科学研究機構・分子科学研究所・助教
研究代表者	藤岡 優子	微生物化学研究会 微生物化学研究所 ・上級研究員
研究代表者	杉本 宏	国立研究開発法人理化学研究所・専任研究員
研究代表者	重松 秀樹	国立研究開発法人理化学研究所・研究員

交付決定額（配分額）

	合計	直接経費	間接経費
平成26年度	166,010 千円	127,700 千円	38,310 千円
平成27年度	372,710 千円	286,700 千円	86,010 千円
平成28年度	353,080 千円	271,600 千円	81,480 千円
平成29年度	338,650 千円	260,500 千円	78,150 千円
平成30年度	338,650 千円	260,500 千円	78,150 千円
総計	1,569,100 千円	1,207,000 千円	362,100 千円

研究発表

雑誌論文

BBA General Subject (<https://www.journals.elsevier.com/bba-general-subjects>)誌は生化学・生物物理学分野の総説と一般研究論文を掲載する科学ジャーナルである。5年間の活動成果を BBA General Subject の特集号として、2020年2月に発表し、25編の論文を掲載した。ゲスト編集者は計画班員の西田、塚崎、神田の3人が務めた。

Special Issue “Novel measurement techniques for visualizing 'live' protein molecules”  
BBA General Subject, Volume 1864, Issue 2, February 2020

(序文)

Preface to the special issue on novel measurement techniques for visualizing 'live' protein molecules at work. Noritaka Nishida, Tomoya Tsukazaki, Daisuke Kohda. Biochim Biophys Acta Gen Subj 1864: 129421 (2020)

(本編)

1. Time-resolved studies of metalloproteins using X-ray free electron laser radiation at SACLA. Michihiro Suga, Atsuhiko Shimada, Fusamichi Akita, Jian-Ren Shen, TakehikoTosha, Hiroshi Sugimoto. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129466 (2020)
2. Diffracted X-ray tracking method for recording single-molecule protein motions. Hirofumi Shimizu. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129361 (2020)
3. Allosteric transitions in hemoglobin revisited. Naoya Shibayama. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129335 (2020)
4. Nanodiamonds for bioapplications-specific targeting strategies. Daiki Terada, Takuya Genjo, Takuya F. Segawa, Ryuji Igarashi, Masahiro Shirakawa. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129354 (2020)
5. Electron cryo-microscopy for elucidating the dynamic nature of live-protein complexes. Hideki Shigematsu. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129436 (2020)
6. Accelerating structural life science by paramagnetic lanthanide probe methods. Tomohide Saio, Koichiro Ishimori. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129332 (2020)
7. The cell resealing technique for manipulating, visualizing, and elucidating molecular functions in living cells. Rina Kunishige, Fumi Kano, Masayuki Murata. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129329 (2020)
8. In situ structural biology using in-cell NMR. Noritaka Nishida, Yutaka Ito, Ichio Shimada. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129364 (2020)
9. Microsystem for the single molecule analysis of membrane transport proteins. Rikiya Watanabe. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129330 (2020)
10. Molecular dynamics simulation of proteins under high pressure: Structure, function and thermodynamics. Hiroaki Hata, Masayoshi Nishiyama, Akio Kitao. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129395 (2020)
11. Fluorescence microscopy for visualizing single-molecule protein dynamics. Hiroaki Yokota. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129362 (2020)
12. A photo-cross-linking approach to monitor protein dynamics in living cells. Ryoji Miyazaki, Yoshinori Akiyama, Hiroyuki Mori. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129317 (2020)
13. The Protein Disulfide Isomerase Family: from proteostasis to pathogenesis. Motonori Matsusaki, Shingo Kanemura, Misaki Kinoshita, Young-Ho Lee, Kenji Inaba, Masaki Okumura. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129338 (2020)
14. Crystal contact-free conformation of an intrinsically flexible loop in protein crystal: Tim21 as the case study. Siqin Bala, Shoko Shinya, Arpita Srivastava, Marie Ishikawa, Atsushi Shimada, Naohiro Kobayashi, Chojiro Kojima, Florence Tama, Osamu Miyashita, Daisuke Kohda. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129418 (2020)
15. Conformational ensemble of an intrinsically flexible loop in mitochondrial import protein Tim21 studied by modeling and molecular dynamics simulations. Arpita Srivastava, Siqin Bala, Hajime Motomura, Daisuke Kohda, Florence Tama, Osamu Miyashita. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129417 (2020)
16. High-speed near-field fluorescence microscopy combined with high-speed atomic force microscopy for biological studies. Takayuki Umakoshi, Shingo Fukuda, Ryota Iino, Takayuki Uchihashi, Toshio Ando. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129325 (2020)
17. Reconstruction of low-resolution molecular structures from simulated atomic force microscopy images. Bhaskar Dasgupta, Osamu Miyashita, Florence Tama. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129420 (2020)
18. Direct visualization of avian influenza H5N1 hemagglutinin precursor and its conformational change by high-speed atomic force microscopy. Kee Siang Lim, Mahmoud Shaaban Mohamed, Hanbo Wang, Hartono, Masaharu Hazawa, Akiko Kobayashi, Dominic Chih-Cheng Voon, Noriyuki Kodera, Toshio Ando, Richard W. Wong. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129313 (2020)
19. Domain selective labeling for NMR studies of multidomain proteins by domain ligation using highly active sortase A. Takahiro Aizu, Takumi Suzuki, Akihiro Kido, Kan Nagai, Ayaho Kobayashi, Reiko Sugiura, Yutaka Ito, Masaki Mishima. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129419 (2020)
20. Recent developments in isotope-aided NMR methods for supramolecular protein complexes –SAIL aromatic TROSY. Yohei Miyanoiri, Mitsuhiro Takeda, Tsutomu Terauchi, Masatsune Kainosho. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129439 (2020)
21. An insight into the dependence of the deamination rate of human APOBEC3F on the length of single-stranded DNA, which is affected by the concentrations of APOBEC3F and single-stranded DNA. Li Wan, Keisuke Kamba, Takashi Nagata, Masato Katahira. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129346 (2020)
22. Dipole-dipole interactions between tryptophan side chains and hydration water molecules dominate the observed dynamic Stokes shift of lysozyme. Asahi Fukuda, Tomotaka Oroguchi, Masayoshi Nakasako. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129406 (2020)
23. Visualizing protein motion in Couette flow by all-atom molecular dynamics. Erik Walinda, Daichi Morimoto, Masahiro Shirakawa, Ulrich Scheler, Kenji Sugase. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129383 (2020)
24. In-cell single-molecule FRET measurements reveal three conformational state changes in RAF protein. Kenji Okamoto, Kayo Hibino, Yasushi Sako. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129358 (2020)
25. Effects of molecular crowding environment on the acquisition of toxic properties of wild-type SOD1. A. Takahashi, C. Nagao, K. Murakami, K. Kuroi, T. Nakabayashi. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 1864: 129401 (2020)

その他の論文発表リスト (研究代表者は二重下線、分担者は下線、協力者は破下線、\*は責任著者)

【研究項目 A01: 過渡的に形成されるタンパク質複合体の動的構造測定技術】  
A01-1 (計画・神田)

1. Yamasaki T, \*[Kohda D](#). A Radioisotope-free Oligosaccharyltransferase Assay Method. *Bio-protocol* 9: e3186 (2019)
2. \*[Kohda D](#). "Multiple partial recognitions in dynamic equilibrium" in the binding sites of proteins form the molecular basis of promiscuous recognition of structurally diverse ligands. *Biophys Rev*. 10:421-433 (2018)
3. \*[Kohda D](#). Structural basis of protein Asn-glycosylation by oligosaccharyltransferase. *Adv Exp Med Biol*. 1104:171-199 (2018)
4. Srivastava A, [Tama F](#), [Kohda D](#), \*Miyashita O. Computational investigation of the conformational dynamics in Tom20-mitochondrial presequence tethered complexes. *Proteins*, 87:81-90 (2018)
5. Fujinami D, -Mahin AA, Elsayed KM, Islam MR, Nagao JI, Roy U, Momin S, Zendo T, \*[Kohda D](#), \*Sonomoto K. The lantibiotic nukacin ISK-1 exists in an equilibrium between active and inactive lipid-II binding states. *Commun Biol*. 1:150 (2018).
6. Fujinami D, Taguchi Y, \*[Kohda D](#). Asn-linked oligosaccharide chain of a crenarchaeon, *Pyrobaculum calidifontis*, is reminiscent of the eukaryotic high-mannose-type glycan. *Glycobiology* 27: 701-712 (2017)
7. Matsumoto S, Taguchi Y, [Shimada A](#), Igura M, \*[Kohda D](#). Tethering an N-glycosylation sequon-containing peptide creates a catalytically competent oligosaccharyltransferase complex. *Biochemistry*, 56:602-611 (2017)
8. Kubota M, \*Takeuchi K, Watanabe S, Ohno S, Matsuoka R, [Kohda D](#), Nakakita SI, Hiramatsu H, Suzuki Y, Nakayama T, Terada T, Shimizu K, Shimizu N, Shiroishi M, Yanagi Y, \*Hashiguchi T. Trisaccharide containing  $\alpha$ 2,3-linked sialic acid is a receptor for mumps virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 113:11579-11584 (2016)
9. Taguchi Y, Fujinami D, \*[Kohda D](#). Comparative analysis of archaeal lipid-linked oligosaccharides that serve as oligosaccharide donors for Asn-glycosylation. *J Biol Chem*, 291:11042-11054 (2016)
10. \*[Shimada A](#), Yamaguchi A, [Kohda D](#). Structural basis for the recognition of two consecutive mutually interacting DPF motifs by the SGPI1 $\mu$  homology domain. *Sci Rep* 6: 19565 (2016)
11. Matsuoka R, [Shimada A](#), Komuro Y, Sugita Y, \*[Kohda D](#). Rational design of crystal contact-free space in protein crystals for analyzing spatial distribution of motions within protein molecules. *Protein Sci* 25: 754-768 (2016)
12. Fujinami D, Nyirenda J, Matsumoto S, \*[Kohda D](#). Structural elucidation of an asparagine-linked oligosaccharide from the hyperthermophilic archaeon, *Archaeoglobus fulgidus*. *Carbohydr Res* 413: 55-62 (2015)
13. Ishiwata A, Taguchi Y, Lee YJ, Watanabe T, [Kohda D](#), \*Ito Y. N-Glycosylation with synthetic undecaprenyl pyrophosphate-Linked oligosaccharide to oligopeptides by PglB oligosaccharyltransferase from *Campylobacter jejuni*. *Chembiochem* 16: 731-737 (2015)

A01-1 (計画分担・稲垣)

1. Saio T, \*[Inagaki F](#). Structural Study of Proteins by Paramagnetic Lanthanide Probe Methods. In: Experimental approaches of NMR spectroscopy -Methodology and application to life science and materials science- (pp. 227-257) Tokyo: Springer Japan (2017)
2. Yokogawa M, Tsushima T, Noda NN, Kumeta H, Enokizono Y, Yamashita K, Standley DM, Takeuchi O, Akira S, \*[Inagaki F](#). Structural basis for the regulation of enzymatic activity of Regnase-1 by domain-domain interactions. *Sci Rep* 6: 22324 (2016)
3. Kobashigawa Y, Amano S, Yoza K, Himeno R, Amemiya S, Morioka H, Yokogawa M, Kumeta H, Schlessinger J, \*[Inagaki F](#). Nuclear magnetic resonance analysis of the conformational state of cancer mutant of fibroblast growth factor receptor 1 tyrosine kinase domain. *Genes Cells* 21: 350-357 (2016)
4. Kobashigawa Y, Amano S, Yokogawa M, Kumeta H, Morioka H, Inouye M, Schlessinger J, \*[Inagaki F](#). Structural analysis of the mechanism of phosphorylation of a critical autoregulatory tyrosine residue in FGFR1 kinase domain. *Genes Cells* 20: 860-870 (2015)
5. Saio T, Ogura K, Kumeta H, Kobashigawa Y, Shimizu K, Yokochi M, Kodama K, Yamaguchi H, Tsujishita H, \*[Inagaki F](#). Ligand-driven conformational changes of MurD visualized by paramagnetic NMR. *Sci Rep* 5: 16685 (2015)
6. Saio T, \*[Inagaki F](#). NMR Structural Biology Using Paramagnetic Lanthanide Probe. In Advanced Methods in Structural Biology (pp. 315-340). Tokyo: Springer Japan (2016)

A01-2 (計画・安藤)

1. Inoue Y, Ogawa Y, Kinoshita M, Terahara N, Shimada M, Kodera N, [Ando T](#), Namba K, \*Kitao A, \*Imada K, \*Minamoto T. Structural insights into the substrate specificity switch mechanism of the type III protein export apparatus. *Structure*, 27: 965-976 (2019)
2. Sahoo BR, Genjo T, ~~Watanabe-Nakayama T~~, Stoddard AK, [Ando T](#), Yasuhara K, Fierke CA, \*Ramamoorthy A. Cationic polymethacrylate-copolymer acts as an agonist for  $\beta$ -amyloid and antagonist for amylin fibrillation. *Chem Sci* 10: 3976-3986 (2019)
3. Owa M, [Uchihashi T](#), Yanagisawa H, Yamano T, Iguchi H, Fukuzawa H, Wakabayashi K, [Ando T](#), \*Kikkawa M. Inner lumen proteins stabilize doublet microtubules in cilia and flagella. *Nat Commun* 10: 1143 (2019)
4. Maruyama S, Suzuki K, Imamura M, Sasaki H, Matsunami H, Mizutani K, Saito Y, Imai FL, Ishizuka-Katsura Y, Kimura-Someya T, Shirouzu M, Uchihashi T, [Ando T](#), Yamato I, \*Murata T. Metastable asymmetrical structure of shaftless V<sub>1</sub> motor. *Sci Adv* 5: eaau8149 (2019).
5. Kori S, Ferr yL, Matano S, Jimenji T, Kodera N, Tsusaka T, Matsumura R, Oda T, Sato M, Dohmae N, [Ando T](#), Shinkai Y, Defosse PA, \*Arita K. Structure of the UHRF1 Tandem Tudor Domain bound to a methylated non-histone protein, LIG1, reveals rules for binding and regulation. *Structure* 27: 485-496 (2019)
6. Sone E, Noshiro D, Ikebuchi Y, Nakagawa M, Khan M, Tamura Y, Ikeda M, Oki M, Murali R, Fujimori T, Yoda T, Honma M, Suzuki H, [Ando T](#), \*Aoki K. The clustering-induction of RANKL molecules could stimulate early osteoblast differentiation. *Biophys Biochem Res Commun* 509: 435-440 (2019)
7. Haruyama T, Sugano Y, Kodera N, Uchihashi T, [Ando T](#), Tanaka Y, [Konno H](#), \*Tsukazaki T. Single-unit imaging of membrane protein-embedded nanodiscs from two oriented sides by high-speed atomic force microscopy. *Structure* 27: 152-160 (2019)
8. Brouns T, De Keersmaecker H, Konrad S, Kodera N, [Ando T](#), Lipfert J, De Feyter S, \*Vanderlinden W. Free energy landscape and dynamics of supercoiled DNA by high-speed atomic force microscopy, *ACS Nano* 12), 11907-11916 (2018)
9. Mori T, Sugiyama S, Byrne M, Johnson CH, [Uchihashi T](#), \*[Ando T](#). Revealing circadian mechanisms of integration and



- resilience by visualizing clock proteins working in real time. *Nat Commun* **9**: 3245 (13 pages) (2018)
10. Ando T et al. Topical Review: The 2018 correlative microscopy techniques roadmap. *J Phys D Appl Phys* **51**: 443001 (42pp) (2018)
  11. Uchihashi T, Watanabe Y, Nakazaki Y, Yamasaki T, Watanabe H, Maruno T, Ishii K, Uchiyama S, Song C, Murata K, Iino R, \*Ando T. Dynamic structural states of ClpB involved in its disaggregation function. *Nat Commun* **9**: 2147 (12pp) (2018)
  12. Ravula T, Ishikuro D, Kodera N, Ando T, Anantharamaiah G, Ramamoorthy A. Real time monitoring of lipid exchange via fusion of peptide based lipid-nanodiscs. *Chem. Mater* **30**: 3204-3207 (2018)
  13. Umakoshi T, Udaka H, Uchihashi T, Ando T, Suzuki M, \*Fukuda T. Quantum-dot antibody conjugation visualized at the single-molecule scale with high-speed atomic force microscopy. *Colloid Surf B, Biointerfaces* **167**: 267-274 (2018)
  14. Noshiro D, \*Ando T. Substrate protein dependence of GroEL-GroES interaction cycle revealed by high-speed AFM imaging. *Roy Soc Phil Trans B* **373**: 20170180 (2018)
  15. Terahara N, Inoue Y, Kodera N, Morimoto YV, Uchihashi T, Imada K, Ando T, \*Namba K, \*Minamino T. Insight into structural remodeling of the FlhA ring responsible for bacterial flagellar type III protein export. *Sci Adv* **4**: eaao7054 (2018)
  16. Haruyama T, Uchihashi T, Yamada Y, Kodera N, \*Ando T, \*Konno H. Negatively charged lipids are essential for functional and structural switch of human 2-Cys peroxiredoxin II. *J Mol Biol* **430**: 602-610 (2018)
  17. Takeda T, Kozai T, Yang H, Ishikuro D, Seyama K, Kumagai Y, Abe T, Yamada H, Uchihashi T, \*Ando T, \*Takei K. Dynamic clustering of dynamin-amphiphysin helices regulates membrane constriction and fission coupled with GTP hydrolysis. *e-Life* **7**: e30246 (19 pp) (2018)
  18. \*Ando T. High-speed atomic force microscopy and its future prospects. *Biophys Rev* **10**: 285-292 (2018)
  19. \*Shibata M, \*Nishimasu H, Kodera N, Hirano S, Ando T, Uchihashi T, \*Nureki O. Real-space and real-time dynamics of CRISPR-Cas9 visualized by high-speed atomic force microscopy. *Nat Commun* **8**: 1430 (9 pp) (2017)
  20. Terahara N, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, Namba K, Minamino T. Na<sup>+</sup>-induced structural transition of MotPS for stator assembly of the *Bacillus* flagellar motor. *Sci Adv* **3**: eaao4119 (9 pp) (2017)
  21. Shibata M, Watanabe H, Uchihashi T, Ando T, Yasuda R. High-speed atomic force microscopy imaging of live mammalian cells. *Biophys Physicobiol* **14**: 127-135 (2017)
  22. \*Watanabe S, \*Ando T. High-speed XYZ nanopositioner for scanning ion conductance microscopy. *Appl Phys Lett* **111**: 113106 (2017)
  23. \*Ando T. Directly watching biomolecules in action by high-speed atomic force microscopy. *Biophys Rev* **9**: 421-429 (2017)
  24. Mohamed MS, Kobayashi A, Taoka A, Watanabe-Nakayama T, Kikuchi Y, Hazawa M, Minamoto T, Fukumori Y, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, Wong RW. High-speed atomic force microscopy reveals loss of nuclear pore resilience as a dying code in colorectal cancer cells. *ACS Nano* **11**: 5567-5578 (2017)
  25. Dufrière YF, Ando T, Garcia R, Alsteens D, Martinez-Martin D, Engel A, Gerber C, \*Müller DJ. Imaging modes of atomic force microscopy for application of molecular and cell biology. *Nat. Nanotechnol.* **12**: 295-307 (2017)
  26. Yamamoto D, \*Ando T. Chaperonin GroEL-GroES functions as both alternating and non-alternating engines. *J Mol Biol* **428**: 3090-3101 (2016).
  27. Yamamoto H, Fujioka Y, Suzuki SW, Noshiro D, Suzuki H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Ando T, \*Noda, NN, Ohsumi Y. The intrinsically disordered protein Atg13 mediates supramolecular assembly of autophagy initiation complexes. *Dev Cell* **38**: 86-99 (2016)
  28. Watanabe-Nakayama T, Itami M, Kodera N, Ando T, \*Konno H. High-speed atomic force microscopy reveals strongly polarized movement of clostridial collagenase along collagen fibrils. *Sci Rep* **6**:28975 (2016)
  29. Uchihashi T, Watanabe H, Fukuda S, Shibata M, \*Ando T. Functional extension of high-speed atomic force microscopy. *Ultramicroscopy* **160**:182-196 (2016)
  30. Fukuda S, Uchihashi T, \*Ando T. Method of mechanical holding of cantilever chip for tip-scan high-speed atomic force microscopy. *Rev Sci Instrum* **86**:063703 (2015)

公募研究

A01 (公募・齊尾)

- \*Okumura M, Noi K, Kanemura S, Kinoshita M, Saio T, Inoue Y, Hikima T, Akiyama S, \*Ogura T, \*Inaba K. Dynamic assembly of protein disulfide isomerase in catalysis of oxidative folding. *Nat Chem Biol.* **15**: 499-509 (2019)
1. Kawagoe S, Nakagawa H, Kumeta H, \*Ishimori K, \*Saio T. Structural insight into proline cis/trans isomerization of unfolded proteins catalyzed by the trigger factor chaperone. *J Biol Chem.* **293**, 15095-15106 (2018)
  2. Saio T, Kawagoe S, Ishimori K, Kalodimos CG. Oligomerization of a molecular chaperone modulates its activity. *Elife.*, **7**, e35731 (2018)
  3. Sato W, Uchida T, Saio T, Ishimori K. Polyethylene glycol promotes autoxidation of cytochrome *c*. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* **1862**, 1339-1349 (2018)
  4. Saio T, \*Inagaki F. Structural Study of Proteins by Paramagnetic Lanthanide Probe Methods. In: Experimental approaches of NMR spectroscopy -Methodology and application to life science and materials science- (pp. 227-257) Tokyo: Springer Japan (2017)
  5. Saio T, \*Inagaki F. NMR Structural Biology Using Paramagnetic Lanthanide Probe. In Advanced Methods in Structural Biology (pp. 315-340). Tokyo: Springer Japan (2016)
  6. Saio T, Ogura K, Kumeta H, Kobashigawa Y, Shimizu K, Yokochi M, Kodama K, Yamaguchi H, Tsujishita H, \*Inagaki F. Ligand-driven conformational changes of MurD visualized by paramagnetic NMR. *Sci Rep* **5**:16685 (2015)
  7. Imai M, Saio T, Kumeta H, Uchida T, Inagaki F, \*Ishimori K. Investigation of the redox-dependent modulation of structure and dynamics in human cytochrome *c*. *Biochem Biophys Res Commun* **469**: 978-84 (2015)

A01 (公募・鎌形)

1. \*Kamagata K, Murata A., Itoh Y., Takahashi S., "Finding the target: Characterization of the facilitated diffusion of transcriptional factor p53 along DNA using ensemble kinetic and single-molecule fluorescence measurements", *J. Photochem. Photobiol., C: Photochem. Reviews*, **30**: 36-50 (2017).
2. Igarashi C., Murata A., Itoh Y., Subekti D. R. G., \*Kamagata K, "DNA garden: A simple method for

- producing arrays of stretchable DNA for single-molecule fluorescence imaging of DNA binding proteins”, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **90**: 34-43 (2017).
- Itoh Y., Murata A., Sakamoto S., Nanatanani K., Wada T., \*Takahashi S. and \*Kamagata K., “Activation of p53 facilitates the target search in DNA by enhancing the target recognition probability”, *J. Mol. Biol.*, **428**: 2916-2930 (2016)
  - \*Takahashi S., Kamagata K., Oikawa H. Where the complex things are: single molecule and ensemble spectroscopic investigations of protein folding dynamics *Curr Opin Struct Biol* **36**:1-9 (2016)
  - Murata A, Ito Y, Kashima R, Kanbayashi S, Nanatanani K., Igarashi C, Okumura M, Inaba K, Tokino T, \*Takahashi S, \*Kamagata K. One-dimensional sliding of p53 along DNA is accelerated in the presence of Ca<sup>2+</sup> or Mg<sup>2+</sup> at millimolar concentrations, *J Mol Biol* **427**: 2663-2678 (2015)
  - Oikawa H, Kamagata K., Arai M, \*Takahashi S. Complexity of the folding transition of the B domain of protein A revealed by the high-speed tracking of single-molecule fluorescence time series. *J Phys Chem B* **119**: 6081-6091 (2015)
- A01 (公募・奥村)
- \*Okumura M., Noji K., Kanemura S, Kinoshita M, Saio T, Inoue Y, Hikima T, Akiyama S, \*Ogura T., \*Inaba K., Dynamic assembly of protein disulfide isomerase in catalysis of oxidative protein folding, *Nature Chemical Biology*, **15**, 499-509 (2019).
  - Okada S, Matsusaki M, Arai K, Hidaka Y, Inaba K., \*Okumura M., \*Muraoka T. Coupling effects of thiol and urea-type groups for promotion of oxidative protein folding, *Chem Commun (Camb)*. **55**, 759-762 (2019).
  - O'Brien H, Kanemura S, Okumura M., Baskin P, Bandyopadhyay P, Ellgaard L, Inaba K., \*Safavi-Hemami H. Ero1-mediated reoxidation of PDI accelerates the folding of cone-snail toxins, *Int. J. Mol. Sci.* **11**, E3418 (2018)
  - Kinoshita M, Lin Y, Itoh D, Okumura M., Markova N, Ladbury JE, Sterpone F, \*Lee YH. Energy landscape of polymorphic amyloid generation of  $\beta$ 2-microglobulin revealed by calorimetry, *Chem Commun (Camb)*. **57**, 7995-7998 (2018).
  - Terakawa MS, Lin Y, Kinoshita M, Kanemura S, Itoh D, Sugiki T, Okumura M., Ramamoorthy A, \*Lee YH. Impact of membrane curvature on amyloid aggregation, *Biochim Biophys Acta Biomembr.* **1860**, 1741-1764 (2018).
  - Arai K, Takei T, Shinozaki R, Noguchi N, Fujisawa S, Katayama H, Moroder L, Ando S, Okumura M., Inaba K., \*Hojo H, \*Iwaoka M. Characterization and optimization of two-chain folding pathways of insulin via native chain assembly, *Communications Chemistry* **1**, e26 (2018).
  - Maegawa K, Watanabe S, Noji K., Okumura M., Amagai Y, Inoue M, Ushioda R, Nagata K, Ogura T., \*Inaba K., The highly dynamic nature of ERdj5 is key to efficient ERAD of aberrant protein oligomers, *Structure* **25**: 846-857 (2017).
  - Arai K, Takei T, Okumura M., Watanabe S, Amagai Y, Asahina Y, \*Hojo H, \*Inaba K., \*Iwaoka M. Preparation of Selenoinsulin as a Long-Lasting Insulin Analogue, *Angewandte Chemie* **56**: 5522-5526 (2017).
  - Kanemura S, Okumura M., K. Yutani, Ramming T, Hikima T, Appenzeller-Herzog C, Akiyama S, \*Inaba K. Human Ero1 $\alpha$  undergoes dual regulation through complementary redox interactions with PDI, *J. Biol. Chem.*, **291**, 23952-23964 (2016)
  - Ushioda R, Miyamoto A, Inoue M, Watanabe S, Okumura M., Maegawa K, Uegaki K, Fujii S, Fukuda Y, Umitsu M, Takagi J, Inaba K., Mikoshiba K, \*Nagata K. Redox-assisted regulation of Ca<sup>2+</sup> homeostasis in the endoplasmic reticulum by ERdj5, *Proc Natl Acad Sci USA*, **113**: E6055-6063 (2016)
  - Ramming T, Kanemura S, Okumura M., \*Inaba K., \*Appenzeller-Herzog C. Cysteines 208 and 241 in Ero1 $\alpha$  are required for maximal catalytic turnover, *Redox Biology* **7**: 14-20 (2016)
  - \*Saiki M, Shiba K, Okumura M. Structural Stability of Amyloid Fibrils Depends on the Existence of the Peripheral Sequence near the Core Cross-03B2 Region, *FEBS Lett.* **589**: 3541-3547 (2015)
  - Ramming T, Okumura M., Kanemura S, Baday S, Birk J, Moes S, Jenö P, Bernèche S, Inaba K., \*Appenzeller-Herzog C. A PDI-catalyzed thiol/disulfide switch regulates the production of hydrogen peroxide by human Ero1, *Free Radic Biol Med.* **83**: 361-372 (2015)
  - Murata A, Ito Y, Kashima R, Kanbayashi S, Nanatanani K, Igarashi C, Okumura M., Inaba K., Tokino T, \*Takahashi S, \*Kamagata K. One-dimensional sliding of p53 along DNA is accelerated in the presence of Ca<sup>2+</sup> or Mg<sup>2+</sup> at millimolar concentrations, *J. Mol Biol.* **427**: 2663-2678 (2015)
  - Okumura M., Kadokura H, \*Inaba K. Structural and mechanistic basis of the PDI family members producing disulfides within the ER, *Free Radic Biol Med.* **83**: 314-322 (2015)
- A01 (公募・矢島)
- Fujimura S, Ito Y, Ikeguchi M, Adachi K, Yajima J., \*Nishizaka T. Dissection of the angle of single fluorophore attached to the nucleotide in corkscrewing microtubules. *Biochem Biophys Res Commun.* **485**:614-620 (2017)
  - Yamagishi M, Shigematsu H, Yokoyama T, Kikkawa M., Sugawa M., Aoki M, Shirouzu M, \*Yajima J., and \*Nitta R. Structural Basis of Backwards Motion in Kinesin-1-Kinesin-14 Chimera: Implication for Kinesin-14 Motility. *Structure.* **24**:1322-1334 (2016)
  - \*Uehara R., Kamasaki T., Hiruma S., Poser I., Yoda K., Yajima J., Gerlich DW., Goshima G. Augmin shapes the anaphase spindle for efficient cytokinetic furrow ingression and abscission. *Molecular Biology of the Cell* **27**: 812-827 (2016)
  - Ichikawa M., Saito K., Yanagisawa H., Yagi T., Kamiya R., Yamaguchi S., Yajima J., Kushida Y., Nakano K., Numata O. and \*Toyoshima YY. Axonemal dynein light chain-1 locates at the microtubule-binding domain of the  $\gamma$  heavy chain. *Molecular Biology of the Cell* **26**: 4236-4247 (2015)
- A01 (公募・永田)
- Iida M, Mashima T, Yamaoki Y, So M, Nagata T., \*Katahira M. The anti-prion RNA aptamer R12 disrupts the Alzheimer's disease-related complex between prion and amyloid. *FEBS J.*, **286**: 2355-2365 (2019)
  - Wan OWH, Mikami B, Saka N, Kondo K, Lin MI, \*Nagata T., \*Katahira M. Identification of key residues for activities of atypical glutathione S-transferase of *Ceriporiopsis subvermispora*, a selective degrader of lignin in woody biomass, by crystallography and functional mutagenesis. *Macromol.* **132**: 222-229 (2019)
  - Wan OWH, Mikami B, Saka N, Kondo K, Lin MI, \*Nagata T., \*Katahira M. Structure of a serine-type glutathione S-transferase of *Ceriporiopsis subvermispora* and identification of the enzymatically important non-canonical residues by functional mutagenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **510**: 177-183 (2019)
  - Lin MI, Hiyama A, Kondo K, \*Nagata T., \*Katahira M. Classification of fungal glucuronoyl esterases (FGEs), and characterization of two new FGEs from *Ceriporiopsis subvermispora* and *Pleurotus eryngii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*

- 102:** 9635-9645 (2018)
5. Lin MI, [\\*Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). High yield production of fungal manganese peroxidases by E. coli through soluble expression, and examination of the activities. *Prot. Exp. Purif.* **145:** 45-52 (2018)
  6. Wan OWH, Mikami B, Saka N, Kondo K, Lin MI, [\\*Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). Characterization of the glutathione S-transferases that belong to the GSTFuA class in *Ceriporiopsis subvermispota*: Implications in intracellular detoxification and metabolism of wood-derived compounds. *Int. J. Biol. Macromol.* **113:** 1158-1166 (2018)
  7. Wan L, [Nagata T](#), Morishita R, Takaori-Kondo A, [\\*Katahira M](#). Observation by real-time NMR, and interpretation of length- and location-dependent deamination activity of APOBEC3B. *ACS Chem. Biol.* **12:** 2704-2708 (2017)
  8. Wan L, [Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). Influence of the DNA sequence/length and pH on deaminase activity, as well as the roles of the amino acid residues around the catalytic center of APOBEC3F. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20:** 3109-3117 (2017)
  9. Kamba K, [\\*Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). The C-terminal cytidine deaminase domain of APOBEC3G itself undergoes intersegmental transfer for a target search, as revealed by real-time NMR monitoring, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20:** 2976-2981 (2017)
  10. Yamaoki Y, [Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **20:** 2982-2985 (2017)
  11. Yamaoki Y, [Nagata T](#), Mashima T, [\\*Katahira M](#). Development of an RNA aptamer that acquires binding capacity against HIV-1 Tat protein via G-quadruplex formation in response to potassium ions. *Chem. Commun.* **53:** 7056-7059 (2017)
  12. Obayashi E, Luna RE, [Nagata T](#), Martin-Marcos P, Hiraiishi H, Singh CR, Erzberger JP, Zhang F, Arthanari H, Morris J, Pellarin R, Moore C, Harmon I, Papadopoulos E, Yoshida H, Nasr ML, Unzai S, Thompson B, Aube E, Hustak S, Stengel F, Dagrada E, Ananbandam A, Gao P, Urano T, Hinnebusch AG, Wagner G, [\\*Asano K](#). Molecular Landscape of the Ribosome Pre-initiation Complex during mRNA Scanning: Structural Role for eIF3c and Its Control by eIF5. *Cell Rep* **18:** 2651-2663 (2017)
  13. Okamura H, Nishimura H, [Nagata T](#), Kigawa T, Watanabe T, [\\*Katahira M](#). Accurate and molecular-size-tolerant NMR quantitation of diverse components in solution. *Sci Rep* **6:** 21742 (2016)
  14. Duvignaud JB, Bédard M, [Nagata T](#), Muto Y, Yokoyama S, Gagné SM, [\\*Vincent M](#). Structure, dynamics and interaction of p54<sup>nrb</sup>/NonO RRM1 with 5' Splice Site RNA sequence. *Biochem.* **55:** 2553-2566 (2016)
  15. Kamba K, [\\*Nagata T](#), [\\*Katahira M](#). Characterization of the deamination coupled with sliding along DNA of anti-HIV factor APOBEC3G on the basis of the pH-dependence of deamination revealed by real-time NMR monitoring. *Front Microbiol* **7:** 587 (2016)
  16. Yoneda R, Suzuki S, Mashima T, Kondo K, [Nagata T](#), [Katahira M](#), [\\*Kurokawa R](#). The binding specificity of translocated in liposarcoma/fused in sarcoma with lncRNA transcribed from the promoter region of cyclin D1. *Cell Biosci* **6:** 4 (2016)
  17. Yamaoki Y, [Nagata T](#), Mashima T, [\\*Katahira M](#). K<sup>+</sup>-responsive off-to-on switching of hammerhead ribozyme through dual G-quadruplex formation requiring no heating and cooling treatment. *Biochem Biophys Res Commun* **468:** 27-31 (2015)
- A01 (公募・水野)
1. Otomo A, Ishikawa H, [Mizuno M](#), Kimura T, Kubo M, Shiro Y, Aono S, [\\*Mizutani Y](#). A Study of the Dynamics of the Heme Pocket and C-helix in CooA Upon CO Dissociation Using Time-resolved Visible and UV Resonance Raman Spectroscopy. *J. Phys. Chem. B.* **120:** 7836-7843 (2016).
  2. Yamawaki T, Ishikawa H, [Mizuno M](#), Nakamura H, Shiro Y, [\\*Mizutani Y](#). Regulatory Implications of Structural Changes in Tyr201 of the Oxygen Sensor Protein FixL. *Biochemistry* **55:** 4027-4035 (2016).
  3. Kondoh M, [Mizuno M](#), [\\*Mizutani Y](#). Importance of Atomic Contacts in Vibrational Energy Flow in Proteins. *J. Phys. Chem. Lett.* **7:** 1950-1954 (2016).
  4. Chang S, [Mizuno M](#), Ishikawa H, [\\*Mizutani Y](#). Effect of the N-terminal residues on the quaternary dynamics of human adult hemoglobin. *Chem. Phys.* **469-470:** 31-37 (2016).
  5. Higashino A, [Mizuno M](#), [\\*Mizutani Y](#). Chromophore structure of photochromic fluorescent protein dropna: acid-base equilibrium of two *cis* configurations. *J. Phys. Chem. B.* **120:** 3353-3359 (2016).
  6. [Mizuno M](#), [\\*Mizutani Y](#). Protein response to chromophore isomerization in microbial rhodopsins revealed by picosecond time-resolved ultraviolet resonance Raman spectroscopy: a review. In *Recent Progress in Surface and Colloids Chemistry with Biological Applications (ACS Symposium Series)*, **1215:** 329-353 (2015).
- A01 (公募・菅)
1. Wang W, Yu L, Xu C, Tomizaki T, Zhao S, Umena Y, Chen X, Qin X, Xin Y, [Suga M](#), Hang G, Kuang T, and [\\*Shen JR](#). Structural basis for blue-green light harvesting and energy dissipation in diatoms. *Science*, 363: eaav0365 (2019).
  2. [Nakajima Y](#), Umena Y, Nagao R, Endo K, Kobayashi K, Akita F, [Suga M](#), Wada H, Noguchi T, and [\\*Shen JR](#). Thylakoid membrane lipid sulfoquinovosyl-diacylglycerol (SQDG) is required for full functioning of photosystem II in *thermosynechococcus elongatus*. *J. Biol. Chem.*, 293: 14786-14797 (2018).
  3. [\\*Kato Y](#), Akita F, [Nakajima Y](#), [Suga M](#), Umena Y, [Shen JR](#), and [\\*Noguchi T](#). Fourier transform infrared analysis of the S-state cycle of water oxidation in the microcrystals of photosystem II. *J. Phys. Chem. Lett.*, 9: 2121-2126 (2018).
  4. Motomura T, [Suga M](#), Hienerwadel R, Nakagawa A, Lai TL, Nitschke W, Kuma T, Sugiura M, Boussac A, and [\\*Shen JR](#). Crystal structure and redox properties of a novel cyanobacterial heme protein with a His/Cys heme axial ligation and a Per-Arnt-Sim (PAS)-like domain. *J. Biol. Chem.*, 292: 9599-9612 (2017).
  5. [Suga M](#), Akita F, Sugahara M, Kubo M, Nakajima Y, Nakane T, Yamashita K, Nakabayashi M, Umena Y, Yamane T, Nakano T, Suzuki M, Masuda T, Inoue S, Kimura T, Nomura T, Yonekura S, Yu L-J, Sakamoto T, Motomura T, Chen J-H, Kato Y, Noguchi T, Tono K, Joti Y, Kameshima T, Hatsui T, Nango E, Tanaka R, Naitow H, Matsuura Y, Yamashita A, Yamamoto M, Nureki O, Yabashi M, Ishikawa T, [\\*Iwata S](#) and [\\*Shen J-R](#). Light-induced structural changes and the site of O=O bond formation in PSII caught by XFEL. Comparison between water-inserted and no water-inserted structures. *Nature*, **543:** 131-135 (2017).
  6. [\\*Shoji M](#), Isobe H, Nakajima T, Shigeta Y, [Suga M](#), Akita F, [Shen JR](#) and [\\*Yamazaki K](#). Large-scale QM/MM calculations of the CaMn<sub>4</sub>O<sub>5</sub> cluster in the S<sub>3</sub> state of the oxygen evolving complex of photosystem II. Comparison between water-inserted and no water-inserted structures. *Faraday Discussions*, 198: 83-106 (2017).

7. Suga M, Qin X, \*Kuang T, \*Shen JR. Structure and energy transfer pathways of the plant photosystem I-LHCI supercomplex. *Current Opinion in Structural Biology*, **39**: 46-53 (2016).
  8. Qin X, Suga M, \*Kuang T, \*Shen JR. Structural basis for energy transfer pathways in the plant PSI-LHCI super-complex. *Science*, **348**: 989-995 (2015).
- A01 (公募・安永)
1. Aramaki S, Mayanagi K, Jin, M, Aoyama, K, \*Yasunaga T. Filopodia Formation by Cross-linking of F-actin with Fascin in Two Different Binding Manners, *Cytoskeleton* **73**(7):365-374 (2016)
  2. Toba S, Koyasako K, Yasunaga T, \*Hirotsune S. Lis1 restricts the conformational changes in cytoplasmic dynein on microtubules, *Microscopy* **64**:419-427 (2015)
- A01 (公募・柴山)
1. \*Shibayama N, Ohki M, Tame JRH, Park SY, Direct observation of conformational population shifts in crystalline human hemoglobin. *J Biol Chem* **292**: 18258-18269 (2017)
  2. Fujiwara S, Chatake T, Matsuo T, Kono F, Tominaga T, Shibata K, Sato-Tomita A, Shibayama N, Ligation-Dependent Picosecond Dynamics in Human Hemoglobin As Revealed by Quasielastic Neutron Scattering. *J Phys Chem B* **121**: 8069-8077 (2017)
  3. Ohki M, Sato-Tomita A, Matsunaga S, Iseki M, Tame JRH, \*Shibayama N, \*Park SY, Molecular mechanism of photoactivation of a light-regulated adenylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci USA* **114**: 8562-8567 (2017)
  4. \*Sato-Tomita A, \*Shibayama N, Happo N, Kimura K, Okabe T, Matsushita T, Park S-Y, Sasaki Y, \*Hayashi K. Development of an X-ray fluorescence holographic measurement system for protein crystals. *Review of Scientific Instruments* **87**: 063707 (2016).
  5. Ohki M, Sugiyama K, Kawai F, Tanaka H, Nihei Y, Unzai S, Takebe M, Matsunaga S, Adachi S, Shibayama N, Zhou Z, Koyama R, Ikegaya Y, Takahashi T, Tame J, \*Iseki M, \*Park S-Y. Structural insight into photoactivation of an adenylate cyclase from a photosynthetic cyanobacterium. *Proc Natl Acad Sci USA* **113**: 6659-6664 (2016).
- A01 (公募・横田)
1. Okuno, D., Hirano, M., Yokota, H., Ichinose, J., Kira, T., Hijiya, T., Uozumi, C., Yamakami, M., \*Ide, T. A gold nano-electrode for single ion channel recordings. *Nanoscale* **10**: 4036-4040 (2018).
  2. Okuno, D., Hirano, M., Yokota, H., Onishi, Y., Ichinose, J., \*Ide, T. A simple method for ion channel recordings using fine gold electrode. *Anal. Sci.* **32**: 1353-1357 (2016).
  3. Iwasa, T., Han, Y. W., Hiramatsu, R., Yokota, H., Nakao, K., Yokokawa, R., Ono, T., \*Harada, Y. Synergistic effect of ATP for RuvA-RuvB-Holliday junction DNA complex formation. *Sci. Rep.* **5**: 18177 (2015).
  4. \*Yoshinari Y., Mori S., Igarashi R., Sugi T., Yokota H., Ikeda K., Sumiya H., Mori I., Tochio H., \*Harada Y., Shirakawa M. Optically detected magnetic resonance of nanodiamonds *in vivo*; Implementation of selective imaging and fast sampling. *J. Nanosci. Nanotechnol.* **15**:1014-1021(2015).
- A01 (公募・藤岡)
1. Yamaguchi M, Satoo K, Suzuki H, Fujioka Y, Ohsumi Y, Inagaki F, \*Noda NN. Atg7 Activates an Autophagy-Essential Ubiquitin-like Protein Atg8 through Multi-Step Recognition. *J Mol Biol.* **430**: 249-257 (2018)
  2. Suzuki H, Osawa T, Fujioka Y, \*Noda NN. Structural biology of the core autophagy machinery. *Curr Opin Struct Biol.* **43**: 10-17 (2017)
  3. Yamamoto H, Fujioka Y, Suzuki SW, Noshiro D, Suzuki H, Kondo-Kakuta C, Kimura Y, Hirano H, Ando T, \*Noda NN, \*Ohsumi Y. The intrinsically disordered protein Atg13 mediates supramolecular assembly of autophagy initiation complexes. *Dev Cell* **38**: 86-99 (2016)
  4. Wu F, Watanabe Y, Guo XY, Qi X, Wang P, Zhao HY, Wang Z, Fujioka Y, Zhang H, Ren JQ, Fang TC, Shen YX, Feng W, Hu JJ, \*Noda NN, \*Zhang H. Structural Basis of the Differential Function of the Two C. elegans Atg8 Homologs, LGG-1 and LGG-2, in Autophagy, *Mol. Cell* **60**: 914-929 (2015)
  5. \*Noda NN, Fujioka Y. Atg1 family kinases in autophagy initiation, *Cell. Mol. Life Sci.* **72**: 3083-3096 (2015)
- A01 (公募・須河)
1. Yamagishi M, Shigematsu H, Yokoyama T, Kikkawa M, Sugawa M, Aoki M, Shirouzu M, \*Yajima J, \*Nitta R. Structural Basis of Backwards Motion in Kinesin-1-Kinesin-14 Chimera: Implication for Kinesin-14 Motility. *Structure.* **24**:1322-34 (2016).
  2. \*Sugawa M, Okazaki K, Kobayashi M, Matsui T, Hammer G, Masaike T, \*Nishizaka T. F<sub>1</sub>-ATPase conformational cycle from simultaneous single-molecule FRET and rotation measurements. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113**: E2916-24 (2016)
- A01 (公募・宮ノ入)
1. Nishikino T, Hijikata A, Miyanoiri Y, Onoue Y, Kojima S, Shirai T, \*Homma, M. Rotational direction of flagellar motor from the conformation of FliG middle domain in marine *Vibrio*. *Sci. Rep.* **8**: 17793 (2018).
  2. Yoshida H, Tanimoto E, Hirai T, Miyanoiri Y, Mitani R, Kawamura M, Takeda M, Takehara S, Hirano K, Kainosho M, Akagi T,
  3. Matsuoka M, \*Ueguchi-Tanaka M. Evolution and diversification of the plant gibberellin receptor GID1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **115**: E7844-53 (2018)
  4. \*Kainosho M, Miyanoiri Y, Terauchi T, Takeda M. Perspective: next generation isotope-aided methods for protein NMR spectroscopy. *J. Biomol. NMR.* **71**: 119-27 (2018)
  5. \*Miyanoiri Y, Hijikata A, Nishino Y, Gohara M, Onoue Y, Kojima S, Kojima C, Shirai T, Kainosho \*M, Homma M. Structural and functional analysis of the C-terminal region of FliG, an essential motor component of *Vibrio* Na<sup>+</sup>-driven flagella. *Structure.* **25**: 1540-48 (2017)
- A01 (公募・中村)
1. \*Nakamura A., Okazaki K., Furuta T., Sakurai M., \*Iino R. Processive chitinase is Brownian monorail operated by fast catalysis after peeling rail from crystalline chitin. *Nat. Commun.* **9**: 3814 (2018)
  2. Nakamura A., Tasaki T., Okuni Y., Song C., Murata K., Kozai T., Hara M., Sugimoto H., Suzuki K., Watanabe T., Uchihashi T., Noji H., \*Iino R., Rate constants, processivity, and productive binding ratio of chitinase A revealed by single-molecule analysis. *Physical Chemistry Chemical Physics.* **20**:3010-3018 (2018)

【研究項目 A02: 細胞環境下でのタンパク質分子の動的構造測定技術】

A02-1 (計画・白川)

1. Iwakawa N, Mahana Y, Ono A, Ohki I, Walinda E, Morimoto D, Sugase K, \*Shirakawa M. Backbone and side-chain resonance assignments of the methyl-CpG-binding domain of MBD6 from Arabidopsis thaliana. *Biomol NMR Assign*. 13:59-62 (2019).
2. Terada, D., Sotoma, S., Harada, Y., \*Igarashi, R and \*Shirakawa, M. One-Pot Synthesis of Highly Dispersible Fluorescent Nanodiamonds for Bioconjugation. *Bioconj Chem* 29:2786-2792(2018)
3. Fujita, H., Tokunaga, A., Shimizu, S., Whiting, A.L., Aguilar-Alonso, F., Takagi, K., Walinda, E., Sasaki, Y., Shimokawa, T., Mizushima, T., Ohki, I., Ariyoshi, M., Tochio, H., Bernal, F., Shirakawa, M., and \*Iwai, K. Cooperative domain formation by homologous motifs in HOIL-1L and SHARPIN plays crucial roles in LUBAC stabilization. *Cell Rep* 23:1192-1204(2018).
4. Shingo Sotoma, Daiki Terada, Takuya F. Segawa, Ryuji Igarashi\* Yoshie Harada\* Masahiro Shirakawa\*, Enrichment of ODMR-active nitrogen-vacancy centres in five-nanometre-sized detonation- synthesized nanodiamonds: Nanoprobes for temperature, angle and position. *Sci Rep* 8:5463(2018)
5. Morimoto D, Walinda E, Shinke M, Sugase K, \*Shirakawa M. Isolation and characterization of a minimal building block of polyubiquitin fibrils. *Sci Rep* 8 : 2711 (2018)
6. Iwakawa N, Morimoto D, Walinda E, Kawata Y, Shirakawa M, \*Sugase K. Real-Time Observation of the Interaction between Thioflavin T and an Amyloid Protein by Using High-Sensitivity Rheo-NMR. *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 2271(2017)
7. Morimoto D, Walinda E, Iwakawa N, Nisizawa M, Kawata Y, Yamamoto A, Shirakawa M, Scheler U, \*Sugase K, High-Sensitivity Rheo-NMR Spectroscopy for Protein Studies. *ANAL CHEM* 89:7286-7290(2017)
8. Walinda E, Morimoto D, Shirakawa M, \*Sugase K, F1F2-selective NMR spectroscopy. *J. Biomol. NMR*. 68:41-52(2017)
9. Iwakawa N, Morimoto D, Walinda E, Sugase K, \*Shirakawa M. Backbone resonance assignments of monomeric SOD1 in dilute and crowded environments. *Biomol. NMR Assign* 11:81-84 (2017)
10. Walinda E, Morimoto D, Shirakawa M, \*Sugase K. Practical considerations for investigation of protein conformational dynamics by <sup>15</sup>N R 1ρ relaxation dispersion. *J Biomol NMR* 67:201-209 (2017)
11. Iwakawa N, Morimoto D, Walinda E, Sugase K, \*Shirakawa M. Backbone resonance assignments of monomeric SOD1 in dilute and crowded environments. *Biomol NMR Assign*. 11:81-84 (2017)
12. Morimoto D, Walinda E, Fukada H, Sugase K, \*Shirakawa M. Ubiquitylation Directly Induces Fold Destabilization of Proteins. *Sci Rep*. 19:39453 (2016)
13. Genjo T, Sotoma S, Tanabe R, \*Igarashi R, Shirakawa M. A Nanodiamond-peptide Bioconjugate for Fluorescence and ODMR Microscopy of a Single Actin Filament. *Anal Sci*. 32:1165-1170 (2016)
14. Hikone Y, Hirai G, Mishima M, Inomata K, Ikeya T, Arai S, Shirakawa M, Sodeoka \*M, Ito Y. A new carbamidemethyl-linked lanthanoid chelating tag for PCS NMR spectroscopy of proteins in living HeLa cells, *J Biomol NMR* 66 :99-110 (2016)
15. Walinda E, Morimoto D, Sugase K, \*Masahiro Shirakawa. Dual Function of Phosphoubiquitin in E3 Activation of Parkin, *J Biol Chem* 291:16879-9(2016)
16. \*Morimoto D, Shirakawa M. The evolving world of ubiquitin: transformed polyubiquitin chains, *Biomol Concepts* 7:157-67(2016)
17. Sotoma S, \*Shirakawa M. Monodispersed Colloidal Solutions of Surface-modified Detonation-synthesized Nanodiamonds and Their Aggregation Resistance. *Chem Lett* 45:697-699 (2016)
18. Walinda E, Morimoto D, Nishizawa M, Shirakawa M. \*Sugase K, Efficient identification and analysis of chemical exchange in biomolecules by R1ρ relaxation dispersion with Amaterasu, *Bioinformatics* 32:2539-41 (2016)
19. Sotoma S, \*Igarashi R, \*Shirakawa M. Moderate plasma treatment enhances the quality of optically detected magnetic resonance signals of nitrogen-vacancy centres in nanodiamonds, *Applied Physics A* 122 :522 (2016)
20. Sotoma S, Iimura J, Igarashi R, Hirotsawa KM, Ohnishi H, Mizukami S, Kikuchi K, Fujiwara TK, \*Shirakawa M, \*Tochio, H. Selective labeling of proteins on living cell membranes using fluorescent nanodiamond probes, *Nanomaterials* 6: 56 (2016)
21. Mishima Y, Jayasinghe CD, Lu K, Otani J, Shirakawa M, Kawakami T, Kimura H, Hojo H, Carlton P, Tajima S, \*Suetake I. Nucleosome compaction facilitates HP1γ binding to methylated H3K9, *Nucleic Acids Res* 43:10200-10212 (2015)
22. Sotoma S, Igarashi R, Iimura J, Kumiya Y, Tochio H, Harada Y, \*Shirakawa M. Suppression of nonspecific protein-nanodiamond adsorption enabling specific targeting of nanodiamonds to biomolecules of interest, *Chem Lett* 44: 354-356 (2015)
23. \*Yoshinari Y, Mori S, Igarashi R, Sugi T, Yokota H, Ikeda K, Sumiya H, Mori I, Tochio H, \*Harada Y, Shirakawa M. Optically detected magnetic resonance of nanodiamonds in vivo; implementation of selective imaging and fast sampling, *J Nanosci Nanotechnol* 15:1014-21 (2015)
24. Sotoma S, Akagi K, Hosokawa S, Igarashi R, Tochio H, Harada Y, \*Shirakawa M. Comprehensive and quantitative analysis for controlling the physical/chemical states and particle properties of nanodiamonds for biological applications, *RSC ADVANCES* 5: 13818-13(2015)
25. Morimoto D, Walinda E, Fukada H, Sou YS, Kageyama S, Hoshino M, Fujii T, Tsuchiya H, Saeki Y, Arita K, Ariyoshi M, Tochio H, Iwai K, Namba K, Komatsu M, Tanaka K, \*Shirakawa M. The unexpected role of polyubiquitin chains in the formation of fibrillar aggregates, *Nat Commun* 6:6116 (2015)
26. Yamada H, Hasegawa Y, Imai H, Takayama Y, Sugihara F, Matsuda T, Tochio H, Shirakawa M, Sando S, Kimura Y, Toshimitsu A, \*Aoyama Y, \*Kondo T. Magnetic resonance imaging of tumor with a self-traceable phosphorylcholine polymer, *J Am Chem Soc*. 137:799-806 (2015)

A02-2 (計画・西田)

1. Mochizuki A, Saso A, Zhao Q, Kubo S, \*Nishida N, \*Shimada I. Balanced Regulation of Redox Status of Intracellular Thioredoxin Revealed by in-Cell NMR. *J Am Chem Soc*. 140:3784-3790 (2018)

- Huang S, Umemoto R, Tamura Y, Kofuku Y, Uyeda TQP, Nishida N, \*Shimada I. Utilization of paramagnetic relaxation enhancements for structural analysis of actin-binding proteins in complex with actin. *Sci Rep* **6**:33690 (2016)
- Takarada O, Nishida N, Kikkawa M, \*Shimada I. Backbone and side-chain <sup>1</sup>H, <sup>15</sup>N and <sup>13</sup>C resonance assignments of the microtubule-binding domain of yeast cytoplasmic dynein in the high and low-affinity states. *Biomol NMR assign* **8**: 379-82 (2014)
- Suzuki T, Suzuki S, Umemoto R, Ogino S, Nishida N, \*Shimada I. Mechanical force effect on the two-state equilibrium of the hyaluronan-binding domain of CD44 in cell rolling. *Proc Natl Acad Sci U S A* **112**: 6991-6 (2015)

A02-2 (計画分担・甲斐荘)

- Yoshida H, Tanimoto E, Hirai T, Miyanoiri Y, Mitani R, Kawamura M, Takeda M, Takehara S, Hirano K, Kainosho M, Akagi T, Matsuoka M, \*Ueguchi-Tanaka M. Evolution and diversification of the plant gibberellin receptor GID1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **115**:E7844-E7853 (2018)
- \*Kainosho M, Miyanoiri Y, Terauchi T, Takeda M. Perspective: next generation isotope-aided methods for protein NMR spectroscopy. *J Biomol NMR*. **71**:119-127 (2018)
- Colaluca IN, Basile A, Freiburger L, D'Uva V, Disalvatore D, Vecchi M, Confalonieri S, Tosoni D, Cecatiello V, Malabarba MG, Yang CJ, Kainosho M, Sattler M, Mapelli M, Pece S, \*Di Fiore PP. A Numb-Mdm2 fuzzy complex reveals an isoform-specific involvement of Numb in breast cancer. *J Cell Biol*. 217:745-762 (2018)
- Miyanoiri Y, Hijikata A, Nishino Y, Gohara M, Onoue Y, Kojima S, Kojima C, Shirai T, Kainosho M, \*Homma M. Structural and Functional Analysis of the C-Terminal Region of FliG, an Essential Motor Component of Vibrio Na<sup>+</sup>-Driven Flagella. *Structure*. 25:1540-1548 (2017)
- Beck Erlach M, Koehler J, Crusca E Jr, Munte CE, Kainosho M, Kremer W, \*Kalbitzer HR Pressure dependence of side chain <sup>13</sup>C chemical shifts in model peptides Ac-Gly-Gly-Xxx-Ala-NH<sub>2</sub>. *J Biomol NMR*. **69**:53-67 (2017)
- Takeda M, Miyanoiri Y, Terauchi T, \*Kainosho M. <sup>13</sup>C-NMR studies on disulfide bond isomerization in bovine pancreatic trypsin inhibitor (BPTI). *J Biomol NMR*. **66**: 37-53 (2016)
- Miyanoiri Y, Ishida Y, Takeda M, Terauchi T, Inouye M, \*Kainosho M. Highly efficient residue-selective labeling with isotope-labeled Ile, Leu, and Val using a new auxotrophic E. coli strain. *J Biomol NMR*. **65**: 109-19 (2016)
- Yang CJ, Takeda M, Terauchi T, Jee J, \*Kainosho M. Differential Large-Amplitude Breathing Motions in the Interface of FKBP12-Drug Complexes. *Biochemistry* **54**: 6983-95 (2015)
- Wang S, Parthasarathy S, Xiao Y, Nishiyama Y, Long F, Matsuda I, Endo Y, Nemoto T, Yamauchi K, Asakura T, Takeda M, Terauchi T, Kainosho M, \*Ishii Y. Nano-mole scale sequential signal assignment by <sup>1</sup>H-detected protein solid-state NMR. *Chem Commun (Camb)* **51**:15055-8 (2015)
- Wang S, Parthasarathy S, Nishiyama Y, Endo Y, Nemoto T, Yamauchi K, Asakura T, Takeda M, Terauchi T, Kainosho M, \*Ishii Y. Nano-mole scale side-chain signal assignment by <sup>1</sup>H-detected protein solid-state NMR by ultra-fast magic-angle spinning and stereo-array isotope labeling. *PLoS One* **10**: e0122714 (2015)
- Schmidt E, Ikeya T, Takeda M, Löhr F, Buchner L, Ito Y, Kainosho M, \*Güntert P. Automated resonance assignment of the 21kDa stereo-array isotope labeled thioldisulfide oxidoreductase DsbA. *J Magn Reson*. **249C**: 88-93 (2014)

A02 (公募・村田)

- Kano, F., \*Murata M. Phosphatidylinositol-3-phosphate-mediated actin domain formation linked to DNA synthesis upon insulin treatment in rat hepatoma-derived H4IIEC3 cells. *Biochem. Biophys. Acta (Molecular Cell Research)*, **1866(5)**:793-805 (2019).
- Ogasawara.F., Kano, F., Murata, M., Kimura, Y., Kioka, N., Ueda, K. Changes in the asymmetric distribution of cholesterol in the plasma membrane influence streptolysin O pore formation. *Sci. Rep.* **9(1)**:4548 (2019).
- Murakami, M., Kano, F., \*Murata M. LLO-mediated cell resealing system for analyzing intracellular activity of membrane-impermeable pharmaceuticals of mid-sized molecular weight. *Sci. Rep.* **8**, Article number: 1946 (2018).
- Kano, F., Noguchi, Y., \*Murata M. Establishment and phenotyping of disease model cells created by cell-resealing technique. *Sci. Rep.* **7**, Article number: 15167. (2017).
- Yamaoki, Y., Kiyoshi, A., Miyake, M., Kano, F., Murata, M., Nagata, T., Katahira, M. The first successful observation of in-cell NMR signals of DNA and RNA in living human cells. *Phys Chem Chem Phys*. doi:10.1039/C7CP05188C (2017).
- Horiuchi, Y., Nakatsu, D., Kano, F., \*Murata, M. Pyruvate kinase M1 interacts with A-Raf and inhibits endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by activating MEK1/ERK pathway in mouse insulinoma cells. *Cell Signal*. **38**: 212–222 (2017).
- Taguchi, Y., Horiuchi, Y., Kano, F., \*Murata, M. Novel prosurvival function of Yip1A in human cervical cancer cells: constitutive activation of the IRE1 and PERK pathways of the unfolded protein response. *Cell Death and Disease*. **8(3)**: e2718 (2017).
- Matsuto M, Kano F, \*Murata M. Reconstitution of the targeting of Rab6A to the Golgi apparatus in semi-intact HeLa cells: A role of BICD2 in stabilizing Rab6A on Golgi membranes and a concerted role of Rab6A/BICD2 interactions in Golgi-to-ER retrograde transport. *Biochem. Biophys. Acta (Molecular Cell Research)*,**1853**:2592–2609 (2015)

A02 (公募・渡邊)

- \*Watanabe, R., Komatsu, T., Sakamoto, S., & \*Noji, H. High-throughput single-molecule bioassay using micro-reactor arrays with a concentration gradient of target molecules. *Lab on a Chip* (2018) **18**, 2849-2853
- \*Watanabe, R., Sakuragi, T., \*Noji, H., & \*Nagata, S. Single molecule analysis of phospholipid scrambling by TMEM16F. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (2018) **115**, 3066-3071
- \*Watanabe, R., Soga, N., Ohdate, S., & \*Noji, H. Single molecule analysis of membrane transporter activity by using a microsystem. *Methods in Molecular Biology* (2018), **1700**, 321-330
- \*Watanabe R, Soga N, Hara M, Noji H. Arrayed water-in-oil droplet bilayers for membrane transport analysis, *Lab Chip* vol: page (2016)
- \*Watanabe R, Soga N, Noji H. Novel Nano-Device to Measure Voltage-Driven Membrane Transporter Activity, *IEEE Trans Nanotech* **15**: 70-73 (2016)
- Soga N, \*Watanabe R, \*Noji H. Attolitre-sized lipid bilayer chamber array for rapid detection of single transporters, *Sci Rep* **5**: 11025 (2015)

A02 (公募・木内)

\*Kiuchi T, Higuchi M, Takamura A, Maruoka M, \*Watanabe N. Multitarget super-resolution microscopy with high-density labeling by exchangeable probes, *Nature Methods* **12**: 743-746 (2015)

A02 (公募・朽尾)

1. Sotoma S, Iimura J, Igarashi R, Hirosawa KM, Ohnishi H, Mizukami S, Kikuchi K, Fujiwara KT, \*Shirakawa M, \*Tochio H. Selective Labeling of Proteins on Living Cell Membranes Using Fluorescent Nanodiamond Probes. *Nanomaterials* **6**: 56-64 (2016)

2. Yoshinari Y, Mori S, Igarashi R, Sugi T, Yokota H, Ikeda K, Sumiya H, Mori I, Tochio H, \*Harada Y, \*Shirakawa M. Optically Detected Magnetic Resonance of Nanodiamonds In Vivo; Implementation of Selective Imaging and Fast Sampling. *J Nanosci Nanotechnol* **15**:1014-21(2015)

A02 (公募・浜地)

1. Yamaura K, \*Kiyonaka S, Numata T, Inoue R, \*Hamachi I. Discovery of allosteric modulators for GABA<sub>A</sub> receptors by ligand-directed chemistry. *Nat Chem. Biol.* **12**: 822-830 (2016)

2. \*Kiyonaka S, Kubota R, Michibata Y, Sakakura M, Takahashi H, Numata T, Inoue R, Yuzaki M, \*Hamachi I. Allosteric Activation of Membrane-Bound Glutamate Receptors Using Coordination Chemistry Within Living Cells. *Nat Chem.* **8**: 958-967 (2016)

3. Hayashi T, Yasueda Y, Tamura T, Takaoka Y, \*Hamachi I. Analysis of cell-surface receptor dynamics through covalent labeling by catalyst-tethered antibody. *J. Am. Chem. Soc.* **137**: 5372–5380 (2015)

A02 (公募・伊藤)

1. Tanaka T, \*Ikeya T, Kamoshida H, Suemoto Y, Mishima M, Shirakawa M, Güntert P, \*Ito Y. High-Resolution Protein 3D Structure Determination in Living Eukaryotic Cells. *Angew Chem Int Ed*, **58**: 7284-7288 (2019)

2. \*Ikeya T, \*Ito Y. Protein NMR structure refinement based on Bayesian Inference for dynamical ordering of biomacromolecules. *J Comput Chem Jpn*, **17**: 65-75 (2018)

3. \*Ikeya T, Ban D, Lee D, Ito Y, Kato K, \*Griesinger C. Solution NMR views of dynamical ordering of biomacromolecules. *Biochim Biophys Acta Gen Subj.* **1862**: 287-306 (2018)

4. Inomata K, Kamoshida H, Ito Y, \*Kigawa K, Impact of cellular health condition on protein folding state in mammalian cells. *Chem Comm* **53**: 11245-11248 (2017)

5. \*Matsuda N, Kimura M, Queliconi BB, Kojima W, Mishima M, Takagi K, Koyano F, Yamano K, Mizushima T, Ito Y, \*Tanaka K, arkinson's disease-related DJ-1functions in thiol quality control against aldehyde attack in vitro. *Sci Rep.* **7**:12816 (2017)

6. \*Ikeya T, Hanashima T, Hosoya S, Shimazaki M, Ikeda S, Mishima M, Güntert P, \*Ito Y. Improved in-cell structure determination of proteins at near-physiological concentration. *Sci Rep.* **6**: 38312 (2016)

7. Hikone Y, Hirai G, Mishima M, Inomata K, Ikeya T, Arai S, Shirakawa M, Sodeoka M, \*Ito Y. A new carbamidemethyl-linked lanthanoid chelating tag for PCS NMR spectroscopy of proteins in living HeLa cells. *J Biomol NMR*, **66**: 99-110 (2016)

8. \*Ikeya T, Ikeda S, Kigawa T, Ito Y Güntert P. Protein NMR Structure Refinement based on Bayesian Inference, *J Phys: Conf Ser* **699**, 012005: 1-14 (2016)

9. Nishimura K, Addy C, Shrestha R, Voet AR, Zhang KY, Ito Y, \*Tame JR. The crystal and solution structure of YdiE from *Escherichia coli*. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun* **71**:919-24 (2015).

A02 (公募・岡本)

1. \*Okamoto K, Sako Y. Recent advances in FRET for the study of protein interactions and dynamics. *Curr. Opin. Struct. Biol.* **46**: 16-23 (2017).

2. Okamoto K, \*Sako Y. State transition analysis of spontaneous branch migration of the Holliday junction by photon-based single-molecule fluorescence resonance energy transfer. *Biophys. Chem.* **209**:21–27 (2016)

A02 (公募・中林)

Takeuchi M, Kajimoto S, \*Nakabayashi T. Experimental Evaluation of Density of Water in a Cell by Raman Microscopy. *J. Phys. Chem. Lett.* **8**: 5241-5245 (2017)

A02 (公募・安部)

1. Abe S, Ito N, Maity B, Lu C, Lu D, \*Ueno T. Coordination design of cadmium ions at the 4-fold axis channel of the apo-ferritin cage. *Dalton Trans*, **48**: 9759-9764 (2019)

2. Negishi H, \*Abe S, Yamashita K, Hirata K, Niwase K, Boudes M, Coulibaly F, Mori H, \*Ueno T. Supramolecular protein cages constructed from a crystalline protein matrix. *Chem Commun* **54**:1988-1991 (2018)

3. \*Abe S, Atsumi K, Yamashita K, Hirata K, Mori H, \*Ueno T. Structure of in cell protein crystals containing organometallic complexes. *Phys Chem Chem Phys* **20**:2986-2989 (2018)

A02 (公募・児嶋)

1. Mio M, Sugiki T, Matsuda C, Mitsuhashi H, Kojima C, Chan SY, Hayashi YK, \*Mio K. Structural instability of lamin A tail domain modulates its assembly and higher order function in Emery-Dreifuss muscular dystrophy. *Biochem Biophys Res Commun* **512**, 22-28 (2019).

2. Kobayashi N, Hattori Y, Nagata T, Shinya S, Güntert P, Kojima C, \*Fujiwara T. Noise peak filtering in multi-dimensional NMR spectra using convolutional neural networks. *Bioinformatics* **34**, 4300-4301 (2018).

3. Hattori Y, Yamanaka D, Morioka S, Yamaguchi T, Tomonari H, Kojima C, \*Tanaka Y. NMR spectroscopic characterization of a model RNA duplex reflecting the core sequence of hammerhead ribozymes. *Nucleos Nucleot Nucleic Acids* **37**, 383-396 (2018).

4. Sugiki T, Egawa D, Kumagai K, Kojima C, Fujiwara T, Takeuchi K, Shimada I, \*Hanada K, \*Takahashi H. Phosphoinositide binding by the PH domain in ceramide transfer protein (CERT) is inhibited by hyperphosphorylation of an adjacent serine-repeat motif. *J Biol Chem* **293**, 11206-11217 (2018).

5. Sugiki T, Furuita K, Fujiwara T, \*Kojima C, Amino acid selective <sup>13</sup>C-labeling and <sup>13</sup>C-scrambling profile analysis of protein alpha and side-chain carbons in *E. coli* utilized for protein NMR. *Biochemistry* **57**, 3576-3589 (2018).

6. \*Kojima S, Takao M, Almira G, Kawahara I, Sakuma M, Homma M, \*Kojima C, \*Imada K. The helix rearrangement in the periplasmic domain of the flagellar stator B-subunit activates peptidoglycan binding and ion influx. *Structure* 26, 590-598 (2018).
7. Kaneko-Suzuki M, Ishikawa R, Terakawa C, Kojima C, Fujiwara M, Ohki I, Tsuji H, Shimamoto K, \*Taoka K. TFL1-like proteins in rice antagonize rice FT-like protein in inflorescence development by competition for complex formation with 14-3-3 and FD. *Plant Cell Physiol* 59, 458-468 (2018).
8. Fukuda N, Noi K, Weng L, Kobashigawa Y, Miyazaki H, Wakeyama Y, Takaki M, Nakahara Y, Tatsuno Y, Uchida-Kamekura M, Suwa Y, Sato T, Ichikawa-Tomikawa N, Nomizu M, Fujiwara Y, Ohsaka F, Saito T, Maenaka K, Kumeta H, Shinya S, Kojima C, Ogura T, \*Morioka H. Production of Single-Chain Fv Antibodies Specific for GA-Pyridine, an Advanced Glycation End-Product (AGE), with Reduced Inter-Domain Motion. *Molecules* 22, 1695 (2017).
9. Miyanoiri Y, Hijikata A, Nishino Y, Gohara M, Onoue Y, Kojima S, Kojima C, Shirai T, Kainosho M, \*Homma M. Structural and functional analysis of the C-terminal region of FliG, an essential motor component of Vibrio Na<sup>+</sup>-driven flagella. *Structure* 25, 1540-1548 (2017).
10. Hattori Y, Heidenreich D, Ono Y, Sugiki T, Yokoyama K, Suzuki E, Fujiwara T, \*Kojima C. Protein <sup>19</sup>F-labeling using transglutaminase for the NMR study of intermolecular interactions. *J Biomol NMR* 68, 271-279 (2017).
11. Sebera J, Hattori Y, Sato D, Reha D, Nencka R, Kohno T, \*Kojima C, \*Tanaka Y, \*Sychrovsky V. The Mechanism of the Glycosylase Reaction with hOGG1 Base-Excision Repair Enzyme: Concerted Effect of Lys249 and Asp268 During Excision of 8-Oxoguanine. *Nucleic Acids Res* 45, 5231-5242 (2017).
12. Shinya S, Ghinet MG, Brzezinski R, Furuta K, Kojima C, Shah S, \*Kovrigin EL, \*Fukamizo T. NMR Line Shape Analysis of a Multi-State Ligand Binding Mechanism in Chitosanase. *J Biomol NMR* 64, 309-319 (2017).

A02 (公募・WONG)

1. Lim SK and \*Wong RW. Targeting nucleoporin POM121-importin  $\beta$  axis in prostate cancer. *Cell Chem. Biol.* 25(9):1056-1058. (2018)
2. Dewi FRP, Domoto T, Hazawa M, Kobayashi A, Douwaki T, Minamoto T and \*Wong RW. Colorectal cancer cells require glycogen synthase kinase-3  $\beta$  for sustaining mitosis via translocated promoter region (TPR)-dynein interaction. *Oncotarget* 9(17):13337-13352. (2018)
3. Hazawa M, Lin D, Kobayashi A, Jiang YY, Dewi FRP, Mohamed MS, Hartono H, Nakada S, Meguro-Horike M, Horike S, Koeffler H and \*Wong RW. Rock-dependent phosphorylation of NUP62 regulates p63 nuclear transport and cell fate of squamous cell carcinoma. *EMBO Rep.* 19: 73-88. (2018)
4. Mohamed MS, Kobayashi A, Taoka A, Watanabe-Nakayama T, Kikuchi Y, Hazawa M, Minamoto T, Fukumori Y, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, \*Wong RW. High-Speed Atomic Force Microscopy Reveals Loss of Nuclear Pore Resilience as a Dying Code in Colorectal Cancer Cells. *ACS Nano.* 11(6):5567-5578. (2017)
5. Hazawa M, Lin D, Handral H, Xu L, Chen Y, Jiang YY, Thippeswamy A, Ding LW, Meng X, Sharma A, Samuel S, Movahednia M, Wong RW, Yang H, Tong C, and Koeffler H, ZNF750 is a lineage-specific tumor suppressor in squamous cell carcinoma. *Oncogene* 36:2243-2254. (2017)

A02 (公募・森)

1. Miyazaki R, Myogo N, Mori H, and \*Akiyama Y, A new photo-cross-linking approach for analysis of protein dynamics *in vivo*. *J. Biol. Chem.* 293, 677-686 (2018)
2. \*Mori H, Sakashita S, Ito J, Ishii E, Akiyama Y. Identification and characterization of arrest motif in VemP by systematic mutational analysis. *J. Biol. Chem.* 293, 2915-2926 (2018)
3. Daimon Y, Masui C, Tanaka Y, Shiota T, Suzuki T, Miyazaki R, Sakurada H, Lithgow T, Dohmae N, Mori H, \*Tsukazaki T, \*Narita S, \*Akiyama. Y. The TPR domain of BepA is required for productive interaction with substrate proteins and the  $\beta$ -barrel assembly machinery (BAM) complex. *Mol. Microbiol.* 106, 760-776 (2017)
4. Furukawa A, Yoshikaie K, Mori T, Mori H, Morimoto YV, Sugano Y, Iwaki S, Minamino T, Sugita Y, Tanaka Y \*Tsukazaki T. Tunnel formation inferred from the I-form structures of the proton-driven protein secretion motor SecDF *Cell Reports* 19, 895-901 (2017)

A02 (公募・西山)

1. \*Nishiyama M. High-pressure microscopy for tracking dynamic properties of molecular machines. *Biophysical Chemistry* 231: 71-78 (2017)
2. \*Tagiguchi K, Hayashi M, Kazayama Y, Toyota T, Harada Y, Nishiyama M. Morphological Control of Microtubule-Encapsulating Giant Vesicles by Changing Hydrostatic Pressure. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 41: 288-293 (2018)
3. Fujii S, Masanari FM, Kobayashi S, Kato C, Nishiyama M, Harada Y, Wakai S, Sambongi Y. Commonly stabilized cytochromes c from deep-sea *Shewanella* and *Pseudomonas*. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 82: 792-799 (2018)
4. \*Nishiyama M. Controlling the Motility of ATP-Driven Molecular Motors Using High Hydrostatic Pressure. *The Role of Water in ATP Hydrolysis. Energy Transduction*: 325-337 (2018)

【研究項目 A03: 新規動的構造測定技術の検証と応用】

A03-1 (計画・杉田)

1. Jung J, Kobayashi C, Sugita Y. Optimal Temperature Evaluation in Molecular Dynamics Simulations with a Large Time Step. *J. Chem. Theory Comput.* 15, 84-94 (2019).
2. Mori T, Kulik M, Miyashita O, Jung J, Tama F, Sugita Y. Acceleration of cryo-EM Flexible Fitting for Large Biomolecular Systems by Efficient Space Partitioning. *Structure* 27, 161-174 (2019)
3. Matsunaga Y, Sugita Y. Linking *time-series* of single-molecule experiments with molecular dynamics simulations by machine learning. *eLife* (2018) 7, e32668.
4. Matsunaga Y, Sugita Y. Refining Markov State Models for conformational dynamics using ensemble-averaged data and time-series trajectories. *J. Chem. Phys.* 148, 241731 (2018).
5. Kamiya M, Sugita Y. Flexible selection of the solute region in replica exchange with solute tempering: Application to



- protein-folding simulations, *J. Chem. Phys.* **149**, 072304 (2018).
6. Kobayashi C, Jung J, Matsunaga Y, Mori T, Ando T, Tamura K, Kamiya M, Sugita Y, GENESIS 1.1: A Hybrid-Parallel Molecular Dynamics Simulator with Enhanced Sampling Algorithms on Multiple Computational Platforms, *J. Comp. Chem.* **38**, 2193-2206 (2017).
  7. Yu I, Mori T, Ando T, Harada R, Jung J, Sugita Y, Feig M, Biomolecular interactions modulate macromolecular structure and dynamics in atomistic model of a bacterial cytoplasm, *eLife* **5**, e19274 (2016)
  8. Jung J, Naruse A, Kobayashi C, Sugita Y, Graphics Processing Unit Acceleration and Parallelization of GENESIS for Large-Scale Molecular Dynamics Simulations, *J. Chem. Theory Comput.* **12**, 4947-4958 (2016)
  9. Otaki H, Yagi K, Ishiuchi S, Fujii M, Sugita Y, Anharmonic Vibrational Analyses of Pentapeptide Conformations Explored with Enhanced Sampling Simulations, *J. Phys. Chem. B* **120**, 10199-10213 (2016)
  10. Nishima W, Mizukami W, Tanaka Y, Ishitani R, Nureki O, Sugita Y, Mechanisms for Two-Step Proton Transfer Reactions in the Outward-Facing Form of MATE Transporter, *Biophys. J.* **110**, 1346-1354 (2016)
  11. Mori T, Miyashita N, Im W, Feig M, Sugita Y, Molecular dynamics simulations of biological membranes and membrane proteins using enhanced conformational sampling algorithms, *BBA-biomembranes*, 1858, 1635-1651 (2016)
  12. Matsuoka R, Shimada A, Komuro Y, Sugita Y, Kohda D, Rational design of crystal contact-free space in protein crystals for analyzing spatial distribution of motions within protein molecules, *Protein Sci.* **25**, 754-768 (2016)
  13. Tanaka Y, Sugano Y, Takemoto M, Mori T, Furukawa A, Kusakizako T, Kumazaki K, Kashima A, Ishitani R, Sugita Y, Nureki O, Tsukazaki T. Crystal Structures of SecYEG in Lipidic Cubic Phase Elucidate a Precise Resting and a Peptide-Bound State, *Cell Rep* **13**, 1561-1568 (2015)
  14. Matsunaga Y, Komuro Y, Kobayashi C, Jung J, Mori T, Sugita Y. Dimensionality of Collective Variables for Describing Conformational Changes of a Multi-Domain Protein, *J. Phys. Chem. Lett.* **7**, 1446-1451 (2016)
  15. Matsunaga Y, Kidera A, Sugita Y. Sequential data assimilation for single-molecule FRET photon-counting data, *J. Chem. Phys.* **142**, 214115 (2015)
  16. Kobayashi C, Matsunaga Y, Koike R, Ota M, Sugita Y. Domain motion enhanced (DoME) model for efficient conformational sampling of multidomain proteins, *J. Phys. Chem. B* **119**, 14584-14593 (2015)
  17. Kobayashi C, Koike R, Ota M, Sugita Y. Hierarchical domain-motion analysis of conformational changes in sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase, *Proteins* **83**, 746-756 (2015)
  18. Jung J, Mori T, Kobayashi C, Matsunaga Y, Yoda, Feig M, Sugita Y. GENESIS: A hybrid-parallel and multi-scale molecular dynamics simulator with enhanced sampling algorithms for biomolecular and cellular simulations, *WIREs Comp. Mole. Sci.* **5**, 310-323 (2015)

A03-1 (計画分担・Tama)

1. Miyashita O, Kobayashi C, Mori T, Sugita Y, Tama F, Flexible fitting to cryo-EM density map using ensemble molecular dynamics simulations, *J. Comp. Chem.* **38**: 1447-1461 (2017)
2. Ahlstrom LS, Vorontsov II, Shi J, Miyashita O, Effect of the crystal environment on side-chain conformational dynamics in Cyanovirin-N investigated through crystal and solution molecular dynamics simulations, *PLoS One* **12**: e0170337 (2017)
3. Nakano M, Tateishi-Karimata H, Tanaka S, Tama F, Miyashita O, Nakano S, and Sugimoto N, Local thermodynamics of the water molecules around single- and double-stranded DNA studied by grid inhomogeneous solvation theory. *Chem. Phys. Lett.* **660**:250-255 (2016)
4. Tokuhisa A, Jonic S, Tama F, Miyashita O. Hybrid approach for structural modeling of biological systems from X-ray free electron laser diffraction patterns, *J Struct Biol.* **194**, 325-336 (2016)
5. Nakano M, Tateishi-Karimata H, Tanaka S, Tama F, Miyashita O, Nakano S, Sugimoto N. Thermodynamic properties of water molecules in the presence of cosolute depend on DNA structure: a study using grid inhomogeneous solvation theory, *Nucleic Acids. Res.* **43**, 10114-10125 (2015)

A03-2 (計画・塚崎)

1. Tsukazaki T. Structural basis of the Sec translocon and YidC revealed through X-ray crystallography. *The Protein Journal*, **38**: 249-261 (2019).
2. Inoue M, Sakuta N, Watanabe A, Zhang Y, Yoshikaie K, Tanaka Y, Ushioda R, Kato Y, Takagi J, Tsukazaki T, Nagata K, and Inaba K. Structural Basis of Sarco/Endoplasmic Reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase 2b Regulation via Transmembrane Helix Interplay. *Cell Rep.* **27**, 1221-1230 (2019)
3. Shahrizal M, Daimon Y, Tanaka Y, Hayashi Y, Nakayama S, Iwaki S, Narita S, Kamikubo H, Akiyama Y and Tsukazaki T. Structural basis for the function of the  $\beta$ -barrel assembly-enhancing protease BepA. *J. Mol. Biol.* **431**, 625-635 (2019)
4. Haruyama T, Sugano Y, Kodera N, Uchihashi T, Ando T, Tanaka Y, Konno H and Tsukazaki T. Single-unit imaging of membrane protein-embedded nanodiscs from two oriented sides by high-speed atomic force microscopy *Structure* **27**, 152-160 (2019)
5. Tanaka Y, Izumioka A, Abdul HA, Fujii A, Haruyama T, Furukawa A and Tsukazaki T. 2.8-Å crystal structure of Escherichia coli YidC revealing all core regions, including flexible C2 loop. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **505**, 141-145 (2018)
6. Tsukazaki T. Structure-based working model of SecDF, a proton-driven bacterial protein translocation factor. *FEMS Microbiology Letters* **365**, fny112 (2018)
7. Furukawa A, Nakayama S, Yoshikaie K, Tanaka Y and Tsukazaki T. Remote Coupled Drastic  $\beta$ -Barrel to  $\beta$ -Sheet Transition of the Protein Translocation Motor. *Structure* **26**, 485-489 (2018)
8. Daimon Y, Iwama-Masui C, Tanaka Y, Shiota T, Suzuki T, Miyazaki R, Sakurada H, Lithgow T, Dohmae N, Mori H, Tsukazaki T, Narita S and Akiyama Y. The TPR domain of BepA is required for productive interaction with substrate proteins and the  $\beta$ -barrel assembly machinery complex. *Mol. Microbiol.* **106**, 760-776 (2017)
9. Tanaka Y, Iwaki S and Tsukazaki T. Crystal structure of a plant multidrug and toxic compound extrusion family protein. *Structure* **25**, 1455-1460 (2017)
10. Sugano Y, Furukawa A, Nureki O, Tanaka Y, Tsukazaki T. SecY-SecA fusion protein retains the ability to mediate protein transport. *PLOS ONE* **12**, e0183434 (2017)
11. Furukawa A, Yoshikaie K, Mori T, Mori H, Morimoto VY, Sugano Y, Iwaki S, Minamino T, Sugita Y, Tanaka Y,

- \*Tsukazaki T., Tunnel formation inferred from the I form structures of the proton-driven protein secretion motor SecDF. *Cell Rep.* **19**, 895-901 (2017)
- Tanaka Y., Sugano Y, Takemoto M, Mori T, Furukawa A, Kusakizako T, Kumazaki K, Kashima A, Ishitani R, Sugita Y, \*Nureki O, \*Tsukazaki T. Crystal structures of SecYEG in lipidic cubic phase elucidate a precise resting and a peptide-bound states. *Cell Rep.* **13**: 1561-1568 (2015)
  - Shimokawa N, Kumazaki K, Tsukazaki T., Nureki O, Ito K, \*Chiba S. Hydrophilic microenvironment required for the channel-independent insertase function of YidC protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **112**: 5063-5068 (2015)
  - Kumazaki K, Kishimoto T, Furukawa A, Mori H, Tanaka Y., Dohmae N, Ishitani R, \*Tsukazaki T., \*Nureki O. Crystal structure of *Escherichia coli* YidC, a membrane protein chaperone and insertase. *Sci. Rep.* **4**: 7299 (2014)
- A03 (公募・奥野)
- Wallen JR, Mallett TC, Okuno T., Parsonage D, Sakai H, Tsukihara T, \*Claiborne A. Structural Analysis of *Streptococcus pyogenes* NADH Oxidase: Conformational Dynamics Involved in Formation of the C(4a)-Peroxyflavin Intermediate. *Biochemistry*, **54**: 6815-29 (2015)
- A03 (公募・清水)
- Takazaki Hiroko, Hirofumi Shimizu. Takuo Yasunaga. Structural Analysis of KcsA by Cryo-EM Single Particle Analysis. *Microscopy* 67(suppl\_2) i35 (2018)
  - Maki-Yonekura S, Matsuoka R, Yamashita Y, Shimizu H. Tanaka M, Iwabuki F, Yonekura K. Hexameric and pentameric complexes of the ExbBD energizer in the Ton system. *eLife* 7 (2018)
  - Takazaki Hiroko, Hirofumi Shimizu. Naoko Kajimura, Kaoru Mitsuoka, Takuo Yasunaga. An Approach to Structural Analysis of a Small Membrane Protein KcsA by Cryo-electron Microscopy
  - Microscopy* 66(suppl\_1) i39 (2017)
  - Kio Tahara, Yoshikazu Hirai. Hirofumi Shimizu. Toshiyuki Tsuchiya, \*Osamu Tabata\*. Photoresist Micro-Chamber for the Diffracted X-ray Tracking Method Recording Single-Molecule Conformational Changes. *Procedia Engineering* 168 (2016) 1394–1397
  - \*Yamakata A, Shimizu H. \*Oiki S. Surface-enhanced IR absorption spectroscopy of the KcsA potassium channel upon application of an electric field. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **17(33)**:21104-11(2015)
  - Furutani Y, Shimizu H. Asai Y, \*Oiki S, \*H. Kandori. Specific interactions between alkali metal cations and the KcsA channel studied using ATR-FTIR spectroscopy. *Biophys. Physicobiol.* **12**: 37-45 (2015)
  - Nakao H, Ikeda K, Iwamoto M. Shimizu H. Oiki S, Ishihama Y, \*Nakano M. pH-Dependent promotion of phospholipid flip-flop by the KcsA potassium channel. *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.* **1848**:145-150 (2015)
- A03 (公募・木村)
- Kodan A, Yamaguchi T, Nakatsu T, Matsuoka K, Kimura Y, Ueda K, Kato H. Inward- and outward-facing X-ray crystal structures of homodimeric P-glycoprotein CmABC1. *Nat Commun.* 2019 Jan 8;10(1):88.
  - Kawanobe T, Shiranaga N, Kioka N, Kimura Y, Ueda K. Apolipoprotein A-I directly interacts with extracellular domain 1 of human ABCA1. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2019 Mar;83(3):490-497.
  - Kimura T. Lorenz-Fonfria VA, Douki S, Motoki H, Ishitani R, Nureki O, Higashi M, \*Furutani Y. Vibrational and molecular properties of Mg<sup>2+</sup> binding and selectivity in the magnesium channel MgtE. *J. Phys. Chem. B.* **122(42)**: 9681-9696 (2018)
  - Komiya R, Kimura T. Nomura T, Kubo M, \*Yan J. Ultraprecision cutting of single-crystal calcium fluoride for fabricating micro flow cells. *J. Adv. Mech. Design, Sys., and Manuf.* **12(1)**: JAMDSM0021 (2018)
  - Tosha T<sup>†</sup>, Nomura T<sup>†</sup>, Nishida T<sup>†</sup>, Saeki N, Okubayashi K, Yamagiwa R, Sugahara M, Nanakne T, Yamashita K, Hirata K, Ueno G, Kimura T. (他 20 名), \*Sugimoto H. \*Shiro Y, \*Kubo M (†These authors contributed equally to this work.). Capturing an Initial Intermediate during the P450<sub>nor</sub> Enzymatic Reaction using Time-Resolved XFEL Crystallography and Caged-Substrate. *Nat. Commun.* **8**: 1585 (2017)
  - \*Kubo M, Nango E, Tono K, Kimura T. (他 19 名). Nanosecond pump-probe device for time-resolved serial femtosecond crystallography developed at SACLA. *J. Synchrotron Radiat.* **24**: 1086-1091 (2017)
  - Shimada A<sup>†</sup>, Kubo M<sup>†</sup>, Baba S<sup>†</sup>, Yamashita K, Hirata K, Ueno G, Nomura T, Kimura T. (他18名), \*Ago H, \*Yoshikawa S, \*Tsukihara T. A nanosecond time-resolved XFEL analysis of structural changes associated with CO release from Cytochrome c Oxidase. *Science Adv.* **3**: e1603042 (2017)
- A03 (公募・南野)
- Terahara N, Noguchi N, Nakamura S, Kami-ike N, Ito M, \*Namba K, \*Minamino T. Load- and polysaccharide-dependent activation of the Na<sup>+</sup>-type MotPS stator in the *Bacillus subtilis* flagellar motor. *Sci. Rep.* **7**: 46081 (2017).
  - Renault TT, Abraham AO, Bergmiller T, Paradis G, Rainville S, Charpentier E, Guet CC, \*Tu Y, \*Namba K. \*Keener JP, \*Minamino T. \*Erhardt M. Bacterial flagella grow through an injection-diffusion mechanism. *eLife*, **6**: e23136 (2017).
  - Fujii T, Kato T. Hiraoka KD, Miyata T, Minamino T., Chevance F, Hughes KT, \*Namba K. Identical folds used for distinct mechanical functions of the bacterial flagellar rod and hook. *Nat. Commun.* **8**: 14276 (2017).
  - Morimoto YV, Namba K. \*Minamino T. Measurements of free-swimming speed of motile *Salmonella* cells in liquid media. *bio-protocol* 7(1): e2093 (2017).
  - Morimoto YV, Namba K. \*Minamino T. Bacterial intracellular sodium ion measurement using CoroNa Green. *bio-protocol* 7(1): e2093 (2017).
  - Morimoto YV, Kami-ike N, Miyata T, Kawamoto A, Kato T. \*Namba K. \*Minamino T. High-resolution pH imaging of living bacterial cell to detect local pH differences. *mBio* 7: 01911-16 (2016).
  - Furukawa Y, Inoue Y, Sakaguchi A, Mori Y, Miyata T, \*Namba K. \*Minamino T. Structural stability of flagellin subunit affects the rate of flagellin export in the absence of FliS chaperone. *Mol. Microbiol.* **102**: 405–416 (2016)
  - Kinoshita M, Nakanishi Y, Furukawa Y, Namba K. \*Imada K. \*Minamino T. Rearrangements of  $\alpha$ -helical structures of FlgN chaperone control the binding affinity for its cognate substrates during flagellar type III export. *Mol. Microbiol.* **101**: 656–670 (2016)
  - \*Imada K. Minamino T. Uchida Y, Kinoshita M, Namba K. Insight into the flagellar type III protein export revealed by the complex structure of the type III ATPase and its regulator. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **113**: 3633–3638 (2016)

10. \*[Minamino T](#), Morimoto YV, Hara N, Aldridge PD, \*[Namba K](#). The bacterial flagellar type III export gate complex is a dual fuel engine that can use both H<sup>+</sup> and Na<sup>+</sup> for flagellar protein export. *PLoS Pathog.* **12**: e1005495 (2016)
11. \*[Minamino T](#), Kinoshita M, Inoue Y, Morimoto YV, Ihara K, Koya S, Hara N, Nishioka N, Kojima S, Homma M, \*[Namba K](#). FlhH and FlhI ensure efficient energy coupling of flagellar type III protein export in *Salmonella*. *MicrobiologyOpen* **5**: 424–435 (2016)
12. \*[McMurry JL](#), [Minamino T](#), Furukawa Y, Francis JW, Hill SA, Helms KA, [Namba K](#). Weak interactions between *Salmonella enterica* FlhB and other flagellar export apparatus proteins govern type III secretion dynamics. *PLoS One* **10**: e0134884 (2015)
13. \*[Minamino T](#), [Imada K](#). The bacterial flagellar motor and its structural diversity. *Trends Microbiol.* **23**: 267–274 (2015)  
A03 (公募・未次)
1. \*[Suetsugu S](#). Higher-order assemblies of BAR domain proteins for shaping membranes. *Microscopy*, **65**:201-210. (2016)
2. Itoh Y, Kida K, Hanawa-Suetsugu K, \*[Suetsugu S](#). Yeast Ivy1p Is a Putative I-BAR-domain Protein with pH-sensitive Filament Forming Ability in vitro. *Cell Struct Funct.* **41**:1-11 (2016)
3. Senju Y, \*[Suetsugu S](#). Possible regulation of caveolar endocytosis and flattening by phosphorylation of F-BAR domain protein PACSIN2/Syndapin II. *Bioarchitecture.* **5**:70-77 (2015)
4. Senju Y, Rosenbaum E, Shah C, Hamada-Nakahara S, Itoh Y, Yamamoto K, Hanawa-Suetsugu K, Daumke O, \*[Suetsugu S](#). Phosphorylation of PACSIN2 by protein kinase C triggers the removal of caveolae from the plasma membrane. *J Cell Sci* **128**:2766-2780 (2015)  
A03 (公募・中迫)
1. Kobayashi A, Takayama Y, Okajima K, Oide M, Yamamoto T, Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#), Kohmura Y, [Yamamoto M](#), Hoshi T, Torizuka Y. Diffraction apparatus and procedure in tomography X-ray diffraction imaging for biological cells at cryogenic temperature using synchrotron X-ray radiation. *J Synchrotron Rad* **25**:1803-1818 (2018).
2. [Oroguchi T](#), Yoshidome T, Yamamoto T, \*[Nakasako M](#). Growth of cuprous oxide particles in liquid-phase synthesis investigated by X-ray laser diffraction. *Nano Lett* **18**:5192-5197 (2018).
3. Oide M, Sekiguchi Y, Fukuda A, Okajima K, [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). Classification of *ab initio* models of proteins restored from small-angle X-ray scattering. *J Synchrotron Rad* **25**:1379-1388 (2018).
4. Kobayashi A, Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), [Yamamoto M](#), \*[Nakasako M](#). Shot-by-shot characterization of focused X-ray free electron laser pulses. *Scientific Reports* **8**:831 (13 pages) (2018).
5. Oide M, \*[Okajima K](#), Nakagami H, [Kato T](#), Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), Hikima T, [Yamamoto M](#), \*[Nakasako M](#). Blue-light excited LOV1 and LOV2 domains cooperatively regulate the kinase activity of full-length phototropin2 from Arabidopsis. *J Biol Chem* **293**: 963–972 (2018)
6. \*[Oroguchi T](#), [Nakasako M](#). Influences of lone-pair electrons on directionality of hydrogen bonds formed by hydrophilic amino acid side chains in molecular dynamics simulation. *Scientific Reports* **7**:15859 (14 pages) (2017).
7. Sekiguchi Y, Hashimoto S, Kobayashi A, [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). A protocol for searching the most probable phase-retrieved maps in coherent X-ray diffraction imaging by exploiting the relationship between convergence of the retrieved phase and success of calculation. *J Synchrotron Rad* **24**:1024–1038 (2017).
8. Kameda H, Usugi S, Kobayashi M, Fukui N, Lee S, Hongo K, Mizobata T, Sekiguchi Y, Masaki Y, Kobayashi A, [Oroguchi T](#), [Nakasako M](#), Takayama Y, [Yamamoto M](#), \*[Kawata Y](#). Common structural features of toxic intermediates from  $\alpha$ -synuclein and GroES fibrillogenesis detected using cryogenic coherent X-ray diffraction imaging. *J Biochem.* (Tokyo) **161**, 55-65 (2017)
9. Oide M, \*[Okajima K](#), Kashojiya S, Takayama Y, [Oroguchi T](#), Hikima T, [Yamamoto M](#), [Nakasako M](#). Blue-light-excited LOV2 triggers a rearrangement of the kinase domain to induce phosphorylation activity in Arabidopsis phototropin1. *J Biol Chem* **291**: 19975–19984 (2016)
10. Kobayashi A, Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), Okajima K, Fukuda A, Oide M, [Yamamoto M](#), \*[Nakasako M](#). Specimen preparation for cryogenic coherent X-ray diffraction imaging of biological cells and organelles using X-ray free-electron laser at SACLA. *J Synchrotron Rad* **23**: 975–989 (2016)
11. [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). Changes in hydration structure regulate collective motions of a multi-domain protein. *Sci Rep* **6**:26302 (14 pages) (2016)
12. Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). Classification and assessment of retrieved electron density maps in coherent X-ray diffraction imaging using multivariate statistics. *J. Synchrotron Rad.* **23**: 312-323 (2016)
13. \*[Yoshidome T](#), [Oroguchi T](#), [Nakasako M](#), \*[Ikeguchi M](#). Classification of projection images of proteins with structural polymorphism by manifold: A simulation study for X-ray free-electron laser diffraction imaging. *Phys. Rev. E* **92**: 032710 (2015)
14. \*[Shirakihara Y](#), Shiratori A, Tanikawa H, [Nakasako M](#), Yoshida M, Suzuki T. Structure of a thermophilic F<sub>1</sub>-ATPase inhibited by an  $\gamma$ -subunit: deeper insight into the  $\gamma$ -inhibition mechanism. *FEBS Journal* **282**: 2895-2913 (2015)
15. Kameda H, Usugi S, Kobayashi M, Fukui N, Lee S, Hongo K, Mizobata T, Sekiguchi Y, Masaki Y, Kobayashi A, [Oroguchi T](#), [Nakasako M](#), Takayama Y, [Yamamoto M](#), \*[Kawata Y](#). Common structural features of toxic intermediates from  $\alpha$ -synuclein and GroES fibrillogenesis detected using cryogenic coherent X-ray diffraction imaging. *J Biochem.* (Tokyo) **161**, 55-65 (2016)
16. Oide M, \*[Okajima K](#), Kashojiya S, Takayama Y, [Oroguchi T](#), Hikima T, [Yamamoto M](#), [Nakasako M](#). Blue-light-excited LOV2 triggers a rearrangement of the kinase domain to induce phosphorylation activity in Arabidopsis phototropin1. *J Biol Chem* **291**: 19975–19984 (2016)
17. Kobayashi A, Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), Okajima K, Fukuda A, Oide M, [Yamamoto M](#), \*[Nakasako M](#). Specimen preparation for cryogenic coherent X-ray diffraction imaging of biological cells and organelles using X-ray free-electron laser at SACLA. *J Synchrotron Rad* **23**: 975–989 (2016)
18. [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). Changes in hydration structure regulate collective motions of a multi-domain protein. *Sci Rep* **6**:26302 (14 pages) (2016)
19. Sekiguchi Y, [Oroguchi T](#), \*[Nakasako M](#). Classification and assessment of retrieved electron density maps in coherent X-ray diffraction imaging using multivariate statistics. *J. Synchrotron Rad.* **23**: 312-323 (2016)

20. \*Yoshidome T, Oroguchi T, Nakasako M, \*Ikeguchi, M. Classification of projection images of proteins with structural polymorphism by manifold: A simulation study for X-ray free-electron laser diffraction imaging. *Phys. Rev. E* **92**: 032710 (2015)
21. \*Shirakihara Y, Shiratori A, Tanikawa H, Nakasako M, Yoshida M, Suzuki T. Structure of a thermophilic F<sub>1</sub>-ATPase inhibited by an  $\gamma$ -subunit: deeper insight into the  $\gamma$ -inhibition mechanism. *FEBS Journal* **282**: 2895-2913 (2015)
- A03 (公募・古川)
1. Furukawa A, Konuma T, Yanaka S, Sugase K. Quantitative analysis of protein–ligand interactions by NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **96**: 47-57 (2016)
- A03 (公募・杉本)
1. Ebrahim, A., Moreno-Chicano, T., Appleby, M. V., Chaplin, A. K., Beale, J. H., Sherrell, D. A., Duyvesteyn, H. M. E., Owada, S., Tono, K., Sugimoto, H., Strange, R. W., Worrall, J. A. R., Axford, D., Owen, R. L., \*Hough, M. A. "Dose-resolved serial synchrotron and XFEL structures of radiation sensitive metalloproteins". *IUCr J.* **6**: 543-551(2019)
2. Naoe, Y., Nakamura, N., Rahman, M. M., Tosha, T., Nagatoishi, S., Tsumoto, K., Shiro, Y., \*Sugimoto, H. "Structural basis for binding and transfer of heme in bacterial heme-acquisition systems". *Proteins* **85**, 2217-2230 (2017)
3. Tosha, T., Nomura, T., Nishida, T., Saeki, N., Okubayashi, K., Yamagiwa, R., Sugahara, M., Nakane, T., Yamashita, K., Hirata, K., Ueno, G., Kimura, T., Hisano, T., Muramoto, K., Sawai, H., Takeda, H., Mizohata, E., Yamashita, A., Kanematsu, Y., Takano, Y., Nango, E., Tanaka, R., Nureki, O., Shoji, O., Ikemoto, Y., Murakami, H., Owada, S., Tono, K., Yabashi, M., Yamamoto, M., Ago, H., Iwata, S., \*Sugimoto, H., \*Shiro, Y., \*Kubo, M. "Capturing an initial intermediate during the P450nor enzymatic reaction using time-resolved XFEL crystallography and caged-substrate". *Nat. Commun.* **8**, 1585 (2017)
4. Uehara, H., Shisaka, Y., Nishimura, T., Sugimoto, H., Shiro, Y., Miyake, Y., Shinokubo, H., Watanabe, Y., \*Shoji, O. "Structures of the heme acquisition protein HasA with iron(III)-5,15-diphenylporphyrin and derivatives thereof as an artificial prosthetic group". *Angew. Chem. Int. Ed.* **56**, 15279-15283 (2017)
5. Naoe Y, Nakamura N, Doi A, Sawabe M, Nakamura H, Shiro Y., \*Sugimoto H. Crystal structure of bacterial heme importer complex in the inward-facing conformation. *Nat. Commun.* **7**, 134111 (2016)
6. Sakaguchi M, Kimura T, Nishida T, Tosha T, Sugimoto H., Yamaguchi Y, Yanagisawa S, Ueno G, Murakami H, Ago H, Yamamoto M, Ogura T, Shiro Y., \*Kubo M. A nearly on-axis spectroscopic system for simultaneously measuring UV-visible absorption and X-ray diffraction in the SPring-8 structural genomics beamline. *J. Synchrotron Rad* **23**: 334-338 (2016)
7. Doi A, Nakamura H, Shiro Y., \*Sugimoto H. Structure of the response regulator ChrA in the haem-sensing two-component system of *Corynebacterium diphtheriae*. *Acta Crystallogr F Struct Biol Commun* **71**: 966-71 (2015)
- A03 (公募・重松)
1. Shima T, Morikawa M, Kaneshiro J, Kambara T, Kamimura S, Yagi T, Iwamoto H, Uemura S, Shigematsu H., Shirouzu M, Ichimura T, Watanabe T M, Nitta R, Okada Y, \*Hirokawa N. Kinesin-binding-triggered conformation switching of microtubules contributes to polarized transport. *The Journal of Cell Biology*, **68**: jcb.201711178 (2018) <http://doi.org/10.1083/jcb.201711178>
2. Shigematsu H., Imasaki T, Doki C, Sumi T, Aoki M, Uchikubo-Kamo T, Sakamoto A, Tokuraku K, Shirouzu M, \*Nitta R. Structural insight into microtubule stabilization and kinesin inhibition by Tau family MAPs. *The Journal of Cell Biology*, **265**: jcb.201711182 (2018) <http://doi.org/10.1083/jcb.201711182>
3. Yamagata A, Miyazaki Y, Yokoi N, Shigematsu H., Sato Y, Goto-Ito S, Maeda A, Goto T, Sanbo M, Hirabayashi M, Shirouzu M, \*Fukata Y, Fukata M, Fukai S. Structural basis of epilepsy-related ligand-receptor complex LGI1-ADAM22. *Nature Communications*, **9**: 1546 (2018) <http://doi.org/10.1038/s41467-018-03947-w>
4. Hasegawa K, Someya Y, Shigematsu H., Kimura-Someya T, Nuemket N, \*Kumasaka T. Crystallization and X-ray analysis of 23 nm virus-like particles from Norovirus Chiba strain. *Acta Crystallographica. Section F, Structural Biology Communications*, **73**: 568–573 (2017) <http://doi.org/10.1107/S2053230X17013759>
5. Niwa S, Nakamura F, Tomabechi Y, Aoki M, Shigematsu H., Matsumoto T, Yamagata A, Fukai S, Hirokawa N, Goshima Y, Shirouzu M, \*Nitta R. Structural basis for CRMP2-induced axonal microtubule formation. *Scientific Reports*, **7**: 10681 (2017) <http://doi.org/10.1038/s41598-017-11031-4>
6. Chase A R, Laudermlch E, Wang J, Shigematsu H., Yokoyama T, \*Schlieker C. Dynamic functional assembly of the Torsin AAA+ ATPase and its modulation by LAP1. *Molecular Biology of the Cell*, **28**: 2765–2772 (2017) <http://doi.org/10.1091/mbc.E17-05-0281>
7. Ehara, H, Yokoyama, T, Shigematsu, H, Yokoyama, S, Shirouzu, M, \*Sekine, S-I. Structure of the complete elongation complex of RNA polymerase II with basal factors. *Science* **357**: 921–924 (2017) <http://doi.org/10.1126/science.aan8552>
8. Wang D, Nitta R, Morikawa M, Yajima H, Inoue S, Shigematsu H., Kikkawa M, \*Hirokawa N. Motility and Microtubule Depolymerization Mechanisms of the Kinesin-8 Motor, KIF19A. *eLife*, **5**: e18101 (2016)
9. Yamagishi M, Shigematsu H., Yokoyama T, Kikkawa M, Sugawa M, Aoki M, Shirouzu M, \*Yajima J \*Nitta R. Structural Basis of Backwards Motion in Kinesin-1-Kinesin-14 Chimera: Implication for Kinesin-14 Motility. *Structure* **24**: 1322–1334 (2016)
10. Yip W S V, Shigematsu H, Taylor D W, \*Baserga S J. Box C/D sRNA stem ends act as stabilizing anchors for box C/D di-sRNPs. *Nucleic acids research*, **44**: 8976-8989(2016)
11. Qu G, Kaushal PS, Wang J, Shigematsu H., Piazza CL, \*Agrawal RK, \*Marlene B, \*Wang H-W. Structure of a group II intron in complex with its reverse transcriptase. *Nature Structural & Molecular Biology* **23**: 549–557 (2016)
12. Yang Y, Wang J, Shigematsu H., Xu W, \*Shih WM, \*Rothman JE, \*Lin C. Self-assembly of size-controlled liposomes on DNA nanotemplates. *Nature Chemistry* **8**: 476–483 (2016)
13. \*Jensen KH, Brandt SS, Shigematsu H., Sigworth FJ. Statistical modeling and removal of lipid membrane projections for cryo-EM structure determination of reconstituted membrane proteins. *Journal of Structural Biology* **194**: 49–60 (2016)
14. Jeong H, Kim J-S, Song S, Shigematsu H., Yokoyama T, \*Hyun J, \*Ha N-C. Pseudoatomic Structure of the Tripartite Multidrug Efflux Pump AcrAB-TolC Reveals the Intermeshing Cogwheel-like Interaction between AcrA and TolC. *Structure* **24**: 272–276 (2016)

A03 (公募・古郡)

1. Le TT, \*[Furukohri A](#), Tatsumi-Akiyama M, Maki H. Collision with duplex DNA renders Escherichia coli DNA polymerase III holoenzyme susceptible to DNA polymerase IV-mediated polymerase switching on the sliding clamp. *Scientific Reports* 7:12755 (2017)

A03 (公募・三島)

1. Tanaka T, Ikeya T, Kamoshida H, Suemoto Y, [Mishima M](#), Shirakawa M, Guntert P, \*Ito Y. "High-Resolution Protein 3D Structure Determination in Living Eukaryotic Cells." *Angew Chem Int Ed Engl.* (2018)
2. Okatsu K, Sato Y, Yamano K, Matsuda N, Negishi L, Takahashi A, Yamagata A, Goto-Ito S, [Mishima M](#), Ito Y, Oka T, Tanaka K, \*Fukai S. "Structural insights into ubiquitin phosphorylation by PINK1." *Sci Rep.* 8:10382 (2018)
3. \*Matsuda N, Kimura M, Queliconi BB, Kojima W, [Mishima M](#), Takagi K, Koyano F, Yamano K, Mizushima T, Ito Y, Tanaka K. "Parkinson's disease-related DJ-1 functions in thiol quality control against aldehyde attack in vitro." *Sci Rep.* 7:12816 (2017)
4. Kobayashi A, Kanaba T, Satoh R, Ito Y, Sugiura R, \*[Mishima M](#). "Chemical shift assignments of the first and second RRM of Nrd1, a fission yeast MAPK-target RNA binding protein." *Biomol NMR Assign.* 11:123-126 (2017).

A03 (公募・八木)

1. Sekiguchi T, Satoh T, Kurimoto E, Song C, Kozai T, Watanabe H, Ishii K, [Yagi H](#), Yanaka S, Uchiyama S, [Uchihashi T](#), Murata K, \*[Kato K](#). Mutational and combinatorial control of self-assembling and disassembling of human proteasome  $\alpha$ -subunits. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 2308 (2019)
2. Yagi-Utsumi, M., Sikdar, A., Kozai, T., Inoue, R., [Sugiyama, M.](#), Uchihashi, T., [Yagi, H.](#), Satoh, T., \*[Kato K](#). Conversion of functionally undefined homopentameric protein PbaA into a proteasome activator by mutational modification of its C-terminal segment conformation. *Protein Engineering, Design and Selection*, 31, 29-36. (2018)
3. Kozai T, Sekiguchi T, Satoh T, [Yagi H](#), \*[Kato K](#), \*[Uchihashi T](#). Two-step process for disassembly mechanism of proteasome  $\alpha 7$  homo-tetradecamer by  $\alpha 6$  revealed by high-speed atomic force microscopy. *Scientific Reports*, 7, 15373 (2017)

A03 (公募・谷中)

1. \*Brinson RG, Marino JP, Delaglio F, Arbogast LW, Evans RM, Kearsley A, Gingras G, Ghasriani H, Aubin Y, Pierens GK, Jia X, Mobli M, Grant HG, Keizer DW, Schweimer K, StÅhle J, Widmalm G, Zartler ER, Lawrence CW, Reardon PN, Cort JR, Xu P, Ni F, [Yanaka S](#), Kato K, Parnham SR, Tsao D, Blomgren A, RundlÖf T, Trieloff N, Schmieder P, Ross A, Skidmore K, Chen K, Keire D, Freedberg DI, Suter-Stahel T, Wider G, Ilc G, Plavec J, Bradley SA, Baldisseri DM, Sforça ML, Zeri ACM, Wei JY, Szabo CM, Amezcua CA, Jordan JB, WikstrÖm M, Enabling adoption of 2D-NMR for the higher order structure assessment of monoclonal antibody therapeutics, *mAbs*, 11, 94-105 (2018).
2. Yagi H, Yanaka S, \*K. Kato, "Structure and Dynamics of Immunoglobulin G Glycoproteins," *Advances in experimental medicine and biology*, 1104, 219-235 (2018).
3. [Yanaka S](#), Yagi H, Yogo R, Yagi-Utsumi M, \*[Kato K](#). Stable isotope labeling approaches for NMR characterization of glycoproteins using eukaryotic expression systems. *J Biomol NMR* 1-10 (2018)
4. Yogo R, [Yanaka S](#), \*[Kato K](#). Backbone  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ , and  $^{15}\text{N}$  assignments of the extracellular region of human Fc $\gamma$  receptor IIIb. *Biomol. NMR Assign.* 12:201-204 (2018)
5. \*[Kato K](#), [Yanaka S](#), Yagi H. Technical basis for nuclear magnetic resonance approach for glycoproteins In: Experimental approaches of NMR spectroscopy-Methodology and application to life science and materials science- *Springer (Singapore)*, 415-438 (2018)
6. [Yanaka S](#), Yamazaki T, Yogo R, Yagi H, \*[Kato K](#). An NMR approach for characterizing antibody interactions in serum environment. *Molecules* 22:1619 (2017)
7. Yogo R, [Yanaka S](#), Yagi H, Inoue R, Sato N, Sugiyama M, \*[Kato K](#). Detection of quaternary structure deformation of immunoglobulin G1 Fc glycoprotein upon interacting with a low-affinity Fc $\gamma$  receptor by deuteration-assisted small-angle neutron scattering. *Biochem Biophys Rep* 12:1-4 (2017)
8. Sakae Y, Satoh T, Yagi H, [Yanaka S](#), Yamaguchi T, Isoda Y, Iida S, Okamoto Y, \*[Kato K](#). Conformational effects of N-glycan core fucosylation of immunoglobulin G Fc region on its interaction with Fc $\gamma$  receptor IIIa. *Sci. Rep.* 7:13780 (2017)
9. [Yanaka S](#), Moriwaki Y, \*Kouhei T, \*Sugase K, Elucidation of potential sites for antibody engineering by fluctuation editing. *Sci Rep* 7: 9597 (2017)

学会発表

領域の紹介と領域としての成果の公開の場として、多くの研究者が集まる規模の大きな学会の年会においてシンポジウムやワークショップの企画の提案を行った。

(主催シンポジウム等の状況)

1. 新学術領域研究「動的構造生命」キックオフミーティング (世話人：神田) 2014年10月3日 福岡
2. 生命分子ダイナミクスの探求を目指す次世代NMR研究会 2015年1月13日 岡崎
3. 国際ホットスプリングハーバーシンポジウム第25回九州大学生体防御医学研究所 2015年11月13日~14日 九州大学馬出病院キャンパス (福岡市)。テーマ：Cutting Edge of Technical Innovations in Structural and Systems Biology (オーガナイザー：神田)。概要：4人の海外招待講演者：James C. Gumbart (米国), Peter Hinterdorfer (オーストリア), Ilme Schlichting (ドイツ), Yifan Cheng (米国)と、国内より構造生物学およびシステム生物学研究者13人の講演。この中に、本新学術の計画研究代表研究者6人、計画研究分担研究者1人、計画研究連携研究者1人、公募班研究者1人が含まれている。森川 (総括班評価者) が参加し、座長と結語の挨拶を行った。
4. シンポジウム「細胞環境における蛋白質の動態解析のためのNMRおよび計算科学的アプローチ」 2016年3月28日 京都大学吉田キャンパス (京都市), オーガナイザー：白川

5. 27th ICMRBS (第 27 回生体系磁気共鳴に関する国際学会)  
2016 年 8 月 25 日 京都国際会議場 (京都市), 共催セッション 20 "Live protein molecules at work"
6. 4th Kanazawa Bio-AFM Workshop (国際学会) (世話人: 安藤)  
2016 年 10 月 3 日~6 日 KKR ホテル金沢 (金沢市)
7. 第 15 回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム (世話人: 神田)  
2017 年 10 月 26 日~27 日 九州大学馬出病院キャンパス (福岡市), 「複合糖質と感染症」と「糖鎖関連蛋白質の構造生物学研究」のセッションを担当し, 米国から講師を 1 名招聘した.
8. 第 15 回~第 18 回日本蛋白質科学会年会 共催ワークショップを 4 回開催した.
9. 第 53 回~第 56 回日本生物物理学会年会 共催シンポジウムを 4 回開催した.
10. 第 41 回日本分子生物学会年会 共催ワークショップを開催した.

(学会の年会の会長)

1. 日本生物物理学会年会 第 53 回年会・年会長 (安藤)
2. 日本蛋白質科学会年会 第 16 回年会・年会長 (神田)

## 図書

Nakasako M. X-ray diffraction imaging of biological cells. Springer Ser. Optic. Sciences Vol. 210 Springer, May 2018.

## 産業財産権

### 出願

「高速原子間力顕微鏡による細胞小器官の観察のための試料調製方法」出願番号 2017-223106 号, 2017 年 11 月 20 日 (公募・Wong)

「OBSERVATION METHOD USING BOND DISSOCIATION PROBE」出願番号:16761865.1, ヨーロッパ, A02 (公募・木内)

「OBSERVATION METHOD USING BINDING AND DISSOCIATION PROBE」, 出願番号: 15/696,089, アメリカ合衆国, (公募・木内)

### 取得

「結合解離プローブを用いた観察方法」, 登録番号: 6422172 日本, (公募・木内)

## ホームページ

領域全体のホームページ (<http://ugoku-tanpaku.jp/>) には班会議や領域主催・共催のシンポジウムの開催案内を随時アップしており, 領域から出された成果 (論文リスト) を公開した. そのほか, 領域の研究概要, 研究組織, 公募要領, 研究成果, ニュースレターなどを掲載し, 班員の意思統一および外部への情報発信を行った.

## 新聞・プレスリリースなど

1. 東京工業大学/微生物化学研究所からのプレスリリース (担当: A01 藤岡)

オートファジー始動装置の構築メカニズムについての成果が, 朝日新聞、毎日新聞、日刊工業新聞、マイナビニュース、News Medical、SCIENMAG などで紹介された (2016 年 7 月 8 日)

2. 理化学研究所からのプレスリリース (担当: A03 重松)

「転写中の RNA ポリメラーゼ II の構造を解明 -細胞内で働いている巨大複合体の姿を明らかに-」について (2017 年 8 月 4 日)

他 28 件

## アウトリーチ活動

1. アウトリーチ活動として複数の計画班員が細胞工学誌や実験医学誌に一般向けの日本語解説を執筆した.

2. 一般向け講演会・セミナー 飯塚市教員 (校長・教頭) 向けに研究内容と専門と大学での学び方について講演 (担当: A01 安永)、他 2 件

3. 小・中・高向け授業・実験・実習

立命館高校の SSH と韓国の Korea Science Academy 高校学生を対象に実習 (担当: A03 南野, 2015 年 7 月 15 日)、他 26 件

4. サイエンスカフェ

日本科学未来館「柔らかな分子を観察しよう」(担当: 鎌形, 2015 年 7 月 11 日)、他 3 件

## 研究成果

### (総括班)

研究項目内および研究項目間の共同研究の推進を図るために、全体班会議を4回開催した。班会議に合わせて総括班会議を開催した。また、技術講習会を計14回開催した(以下参照)。その結果、全体班会議と技術講習会が契機となり始まった共同研究が16件あり、共著論文20報(2019年9月時点)に結実した。領域の紹介と成果の公開の場として、3回の国際集会と学会年会においてワークショップを10回開催した。領域全体のホームページを公開し、ニュースレターを計12号発行した。BBA誌特集号に25報の論文として領域の成果を掲載した。計画班員だけでなく公募班員による新しい測定技術の開発が活発に行われたことに、領域として活動した意義があった。

### 技術講演会・技術講習会の開催

新発想技術を領域内に普及するためには実技指導を含めた技術講習会が核となる。内容は高速AFM、セミインタクト細胞リシール法、MD計算プログラムGENESIS、クライオ電子顕微鏡操作と解析、結晶コンタクトフリー空間を使う新X線結晶解析技術、in cell NMR、Rheo-NMRと多岐にわたる。

#### 【A01の技術講習会】

- 結晶コンタクトフリー空間法(担当:神田)

班会議期間内、2018年6月13日、第2期公募班員を対象に技術講習会を開催。

- 高速AFM(担当:安藤)

第4回バイオAFM夏の学校、2014年8月19日~25日、金沢大学。本領域から4人参加。

第5回バイオAFM夏の学校、2015年8月1日~7日、金沢大学。本領域から7名が参加。

国際版第5回バイオAFM夏の学校、2016年8月1日~6日、金沢大学。高速AFMでは10名、超解像AFMでは4名を選考した、うち海外から4名。

国際版第6回バイオAFM夏の学校、2017年8月21日~26日、金沢大学。高速AFMを12名、超解像AFMを6名、SICMでは4名を選考。海外5名は米国、カナダ、中国、フランス、インド。

国際版第7回バイオAFM夏の学校、2018年8月27日~9月1日、金沢大学。高速AFMを12名、超解像AFMを7名、SICMでは6名が参加。海外はタイ、米国、オランダ、イギリス。

- クライオ電子顕微鏡(担当:神田)

クライオ電子顕微鏡ハンズオン実技講習会、2017年1月16日~18日と2月27日~3月1日。九州大学。クライオ電子顕微鏡Polaraを使った実習を少人数で行った。

- クライオ電子顕微鏡(担当:Tama)

電子顕微鏡イメージ処理プログラムSCIPIONワークショップ、2018年2月21日~22日、名古屋大学。フランスとスペインから2名の講師を招聘して実際にプログラムを動かしながら講習した。

#### 【A02の技術講習会】

- インセルNMRとRheo-NMR(担当:白川)

班会議期間内、2018年6月13日、福岡市、第2期公募班員を対象に技術講習会を開催した。

- In cell NMRのためのセミインタクト細胞リシール法講習会(担当:A02公募・村田、西田)

2015年9月2日、東京大学。細胞内への蛋白質導入技術のうち、主にin-cell NMRへの応用を目的とした。すでにin-cell NMRを始めている研究者にとっては自らの実験の改善に役だった。計画と公募関係者合わせて11名が参加した。

2017年9月22日、東京大学。計画と公募関係者合わせて10名が参加した。

- NMR勉強会(担当:白川)

第17回RRR workshop 2017、2017年2月22日~23日、京都大学。海外から講師3名を招聘した。

第18回若手NMR研究会を賛助、2017年9月2日~4日、和歌山県田辺市。本新学術から3名参加。

#### 【A03の技術講習会】

- 分子動力学計算ソフトウェア(担当:杉田)

GENESISソフトウェア講習会、2015年9月14日、計算科学振興財団(神戸市)。

GENESISソフトウェア講習会、2017年1月13日、計算科学振興財団(神戸市)。

GENESIS ソフトウェア講習会, 2017 年 10 月 5 日, タワーホール船堀 (千葉市).

(国際活動支援班)

新学術領域研究「動的構造生命」の学術活動の範囲を国際的に広げることを目指し、「動的構造生命科学研究領域における海外ネットワーク形成」を目指した支援活動を行った。4 年間の活動期間中に、海外からの講演者の招聘 4 件 5 人、海外からの共同研究者やポスドク、学生の受入 13 件 13 人、サバティカル教員の受入 1 件 1 人、共同実験のための教員や学生の派遣 1 件 4 人、国内国際学会への日本在住外国籍学生の派遣 1 件 3 人、国際版の技術講習会への海外からの参加の支援 6 件 31 人、公募班員に対する旅費支援 11 件 11 人を行った。

当初は海外からの優れた研究者による講演のための日本への招聘旅費を中心に考えていたが、実際に運用すると国際連携に実質的に役立つ運用ができた。教員や大学院生の海外研究室での実験のための旅費支援や、海外からの研究者の短期および長期滞在 (2 週間~1 年間) のサポートなど、通常の研究費では難しい活動を支援できた。

(計画研究)

神田大輔 (計画班 A01)

(概要) 蛋白質結晶中に結晶コンタクトが無い空間を意図的に創り出し、柔らかい構造 (ループやリガンド) を配置して、その動きの空間分布を差マップ中の電子密度として解析する方法を開発した。鍵となるのはタグ蛋白質と対象蛋白質を一本の長いヘリックスを用いて硬く接続することにある。Tom20 蛋白質に結合した状態のプレ配列ペプチドの運動の可視化と、Tim21 蛋白質の結晶コンタクトにより変形したループ部分の溶液構造の推定に適用した。

(意義) 蛋白質の結晶中では分子同士が接触して 3 次元の結晶格子を作っている。蛋白質の中には一部の構造が柔らかく創られているために、結晶中では結晶コンタクトにより容易に変形し、正しい形 (溶液中の平衡状態) をとっていない可能性がある。柔らかく動的な部分の構造変化は蛋白質の機能と密接に関連していることが少なくないことを考えると、「柔軟構造の変形・固定問題」を真剣にとらえ、実験的に解決する手段を考案することは重要である。

安藤敏夫 (計画班 A01)

(概要) 本研究の目的は大きく 2 つに分けられる。(1) 高速 AFM のバイオ応用研究を自ら推進するだけでなく、班員と領域外の研究者にも装置を開放して、彼らと協力してタンパク質分子が動作する姿を活写する動的構造生命科学を幅広く新規開拓すること、(2) 装置の高度化を更に進めて、従来的高速 AFM では観察不可能な分子レベルで起こる現象を観察可能にすることにある。前者については、非常に多様なタンパク質系的高速 AFM 観察に成功し、機能プロセスのメカニズムの理解に繋がった。後者については、高速 AFM と光ピンセットとの複合機、及び、高速 AFM 装置に基づく超解像蛍光顕微鏡の開発に成功した。これらの応用展開は今後の課題である。

(意義) タンパク質分子は生命の機能素子であり、その機能する仕組の解明は生命現象及び疾病の理解に必須である。代表者が開発した高速 AFM は機能中のタンパク質分子を直接観察することを可能にし、機能メカニズムの理解を促進する。だが、多くの対象を観察するには、多くの研究者との共同研究が必要であった。また、現在的高速 AFM でさえ観察できない現象があり、装置の高度化は必須であった。本研究の実施は、多くの多様なタンパク質系の理解を可能にしただけでなく、この顕微鏡を利用できる人材の育成にも繋がった。高速 AFM の高度化は新規観察を可能にした。その本格的応用は今後の課題だが、更なる生命現象の理解に貢献するものと期待される。



白川昌宏 (計画班 A02)

(概要) ナノダイヤモンド (ND) を使った光検出磁気共鳴 (ODMR) 法について、ND 中でセンサーとして機能する格子欠陥 (NV センター) を形成する技術、ND による分子特異的標識技術、および NV センターを用いた新規ナノ計測技術を開発した。蛋白質重合体 (細胞骨格等) の単量体を ND に修飾することにより、細胞内で起こる重合過程を利用した新たなダイヤモンド標識方法を確立し、その動態を追跡した。また、試料に剪断流を加えながら NMR 測定ができる新たな Rheo-NMR 法を開発した。

(意義) 従来法に比べ簡便で、極低温プローブ装着の NMR 装置にも適用でき、Rheo-NMR 法として世界最高感度・分解能である。

西田紀貴・甲斐荘正恒 (計画班 A02)

(概要) 本研究では、バイオリアクター型 in-cell NMR 法を高度化し、細胞内生命現象のリアルタイム観測へ応用した。細胞内の主な抗酸化分子グルタチオンとチオレドキシン Trx の両方を安定同位体標識した細胞の調製法を確立し、酸化ストレス添加に伴う酸化還元電位と Trx の酸化還元状態の変化のリアルタイム観測を行い、細胞内における活性制御機構を明らかにした。また、低分子量 GTPase である Ras の活性型 (GTP 結合型割合) の in-cell NMR 観測を行い、野生型および発癌性変異体のいずれにおいても細胞内の GTP 型割合は in vitro よりも低く抑えられており、細胞内因子の寄与を定量的に解明することに成功した。

(意義) 細胞内は多種多様なタンパク質が複雑なネットワークを形成する分子混雑環境であり、細胞内のタンパク質は in vitro とは異なる構造や活性を示す。本研究では in-cell NMR 法を高度化し、細胞内タンパク質の構造や活性変化をリアルタイム観測する手法を確立して、細胞内酸化ストレスやシグナル伝達タンパク質の活性評価に適用した。本研究成果は、細胞内生命現象の可視化のみならず、細胞内で創薬標的タンパク質に対する候補化合物の薬効を直接評価するツールとしての応用が期待できる。

杉田有治・Tama Florence (計画班 A03)

(概要) 実験等で得られる低解像度構造情報と分子動力学などで得られる高解像度シミュレーション情報を組み合わせた新しい解析手法を開発した。具体的には、クライオ電子顕微鏡と分子動力学を組み合わせたフレキシブルフィッティングにおけるアンサンブル計算や並列化手法、一分子解析と分子動力学を機械学習で組み合わせたモデリング手法などで、新規性の高い開発である。これらは分子動力学ソフトウェア GENESIS の機能として導入し、効率の良い構造探索手法やマルチスケール分子モデルと組み合わせて計算を行うことができる。開発した手法を膜タンパク質やタンパク質・核酸複合体などの動的構造の解析に応用した。

(意義) 本研究は、シミュレーションなどの理論的な手法だけでは解決できない問題を実験データとうまく組み合わせることで克服する新しいアプローチである。また、クライオ電子顕微鏡の利用が今後ますます発展することを考慮すると、そのモデリングを分子動力学で高解像度化できることは大きな意義がある。実際、製薬企業などでもクライオ電子顕微鏡を用いた構造解析を薬物との相互作用を理解するために導入し始めており、それらの解析に貢献することができる。開発した手法は GENESIS に導入し、今後一般公開していくため、広いユーザーが利用することができる。

塚崎智也 (計画班 A03)

(概要) 細菌におけるタンパク質分泌は生命必須の仕組みである。この反応には一連の Sec タンパク質群が関与するが、どのようにタンパク質を輸送しているのかについて詳細な分子メカニズムは不明のままである。本研究では、X 線結晶構造解析や高速原子間力顕微鏡により Sec タンパク質の働きを明らかとすべく研究を進めた。その結果、様々な状態の Sec タンパク質の構造を

明らかとすると同時にリアルタイムユニット解析でタンパク質分泌反応を観察できる系を構築した。

(意義) タンパク質の分泌反応は、生命が生きていく上で欠かせない機構の一つである。しかし、その分子メカニズムは未だなお不明な点が多い。タンパク質の分泌反応に関わるタンパク質は Sec タンパク質群であり、これらの働きを明らかとすることは生命を理解する情報を与えるため、本研究は基盤科学として意義深い。

(公募班)

(A01 班) 齋尾はランタニドイオンの常磁性効果の NMR 解析により、タンパク質の立体構造変化を迅速に捉えることができることを示した。永田は NMR 実時間計測法を使って一本鎖 DNA 上の位置情報を加味した新しい酵素反応解析ができることを示した。

(A02 班) 村田はリシール細胞作成技術の改良を行い、大型分子の細胞内導入効率を飛躍的に増加させることに成功した。in-cell NMR 法の感度上昇につながる重要な成果である。技術開発では、渡邊は膜タンパク質の機能を 1 分子で計測できる生体膜マイクロチップの開発に成功し、リン脂質のスクランブリングに適用した。岡本は 1 分子蛍光 FRET 計測を細胞内で行うための Alternative Laser Excitation (ALEX) 計測装置を開発した。浜地は短鎖抗体に有機触媒をコンジュゲートした反応性抗体を新しく開発し、膜受容体との結合状態を化学反応によってスナップショット的にマッピングする手法を開発した。木内は標的タンパク質に結合・解離する蛍光プローブを用いた高密度標識・多重染色超解像顕微鏡法 IRIS の開発に成功した。

(A03 班) 清水は新材料を用いて金ナノ結晶を使った X 線 1 分子動態計測のための観測チャンバの製作を行った。中迫は構造解析に関連して、多変量解析やマニフォールドによって得られる推定モデルの立体構造を検討する手法を考案した。杉本は結晶の X 線回折と可視吸収スペクトルの同軸・同時観測システムを構築した。

総括

全体的な総括として、計画班員のみならず、公募班員による新しい測定技術の開発が活発に行われた。その背景には動的構造測定法に単一の強力な手法がなく、個々の対象に合わせた測定法を工夫する余地が大いに残されていることを示している。本領域で産み出された測定技術とそれを補佐する実験技法は、タンパク質分子が“形を変えながら機能している姿”を活写することに繋がる。今後、常識を覆す発見につながることを期待する。