

5 - 4 タンパク3000プロジェクト 中核機関成果報告

グループ名 個別的解析プログラム名(転写・翻訳)
中核機関名 横浜市立大学
代表者名 西村 善文

1. 平成17年10月末におけるグループ全体の事業計画に対する事業の進捗状況の概要について

転写・翻訳に関連するタンパク質の構造と機能を解析した。特に最近、真核生物においてはクロマチン構造や様々なタンパク質修飾も転写等の核内現象の制御に非常に重要であることが判ってきたため、クロマチン関連因子やタンパク質修飾関連因子も重点的に解析した。

1. 基本転写因子 TFIIIE では既に当研究室で決定していた サブユニットのコアドメインの構造に引き続き サブユニットのコアドメインである Zn 結合ドメインの構造を初めて NMR 法で決定したところ新規構造だった。解析の結果タンパク質表面に特徴的な酸性アミノ酸パッチがあることが判明しそれらの変異体を作成したところ転写活性化能が上昇した変異体を得る事が出来た。
2. 基本転写因子 TF E サブユニットと酵母メディエーター Gal11 サブユニットの相互作用部位の構造を NMR 法により決定した。TF E サブユニットの Gal11 結合部位は、3本の α -helix からなる LEM ドメイン様の立体構造を持つことがわかった。この立体構造は非常に不安定であり、溶液では過渡的に立体構造を形成していることが NMR から明らかになった。
3. 植物の転写因子として世界で初めて植物の形態形成に関与する転写因子 HY5 及びその DNA との複合体の X 線結晶構造解析に成功し、植物の光シグナル伝達系の構造生物学的研究の第一歩を築いた。
4. 転写調節因子である C/EBP および C/EBP と各種の天然プロモーター上に存在する非対称性配列および人工的な対称性配列 High Affinity Site を持つ DNA フラグメントとの複合体、さらに、様々な変異型 C/EBP と DNA との複合体の結晶構造解析を行った。他の bZIP タンパク質との立体構造比較と、立体構造に基づいた部位特異的アミノ酸変異導入と表面プラズモン法による生化学的機能解析によって、C/EBP の特徴である天然のプロモーター上の非対称性 DNA 配列の認識機構を、責任残基とともに明らかにした。
5. 急性白血病において、造血幹細胞の分化に必須の転写制御因子である Runx1 と CBF タンパク質の変異が見つかっている。核磁気共鳴法(NMR)を用いた分子緩和時間測定、および表面プラズモン共鳴法を用いた Runx1 の DNA 結合の速度論的解析を行った。Runx1-DNA 複合体および Runx1-CBF-DNA 複合体における Runx1 分子全体の揺らぎのパターンの概要を明らかにした。その結果、Runx1 の DNA 活性の CBF によるアロステリック制御機構が、Runx1 のある特定の時間スケールでの揺らぎの安定化にあることが明らかになった。
6. GT-1 は、植物遺伝子の光に応答した発現の制御に関与している転写活性化 DNA 結合タンパク質である。GT-1 の DNA 結合ドメインの構造を決定し、3本の α -ヘリックスが密にパックした構造である事が分かった。標的 DNA との相互作用部位は、ヘリックス 1 の N 末端部とヘリックス 3 である事が分かった。GT-1 はリン酸化により DNA 結合能が上昇する。リン酸化をミミックするこの変異体の構造を決定した。ヘリックス 3 の N 末側に構造変化が認められた。
7. Drosophila グリア細胞特異的転写因子 GCM の GCM-boxDNA 結合ドメインが新規の亜鉛結合モチーフを有することを明らかにし、亜鉛に配位する Cys 残基の同定に成功した。
8. 約 30 種類以上の神経特異的な遺伝子の発現を神経前駆細胞や非神経細胞で抑制するリプレッサータンパク質の NRSF/REST とコリプレッサーの mSin3 の相互作用様式を決定した。NRSF の N 末領域の中の約 10 アミノ酸からなる疎水性領域が Sin3 の PAH1 ドメインと結合することを同定し両者の複合体構造を NMR 法で決定した。NRSF は疎水性ヘリックスを形成し Sin3 の PAH1 ドメインが作る 4 本ヘリックスバンドル構造の疎水性溝に深く埋もれていた。
9. 転写制御でクロマチン構造の変化に関連するクロマチンリモデリング因子の一つである酵母 Chd1 の中にタンデムに並んだ 2 個のクロモドメインの CD1 と CD2 の立体構造を決定した。今までクロモドメインはメチル化ヒストンペプチドと認識して遺伝子のサイレンシングに関与することが報告されていたが今回の構造解析の結果メチル化ヒストンとは相互作用できないことが判明し全く新規な機能を持つクロモドメインであることが判った。結合活性を調べたところ弱いながらも DNA 結合

活性があった。

10. ヒストン N 末端のアルギニン残基及びメチル化されたアルギニン残基をシトルリン化することにより、CARM1 によるメチル化を制御し転写を調節する PAD4 とヒストン N 末端ペプチド (基質) との複合体の X 線結晶構造解析に成功し、PAD4 によるヒストン尾部の認識及び修飾機構を明らかにした。PAD4 は関節リュウマチの原因遺伝子産物なので PAD4 の阻害剤は薬物候補化合物になりえ、いくつかの阻害剤との複合体構造を決定した。
11. マウスの核内タンパク質として同定された MeCP2 はメチル化された DNA (メチル化 CpG) に特異的に結合する転写制御因子であり、転写抑制に関与する。MeCP2 の DNA 結合ドメインと DNA との安定な複合体の調製と結晶化に成功し、2.4 の分解能の回折データを収集した。
12. クロマチン切断酵素であるアポトーシス関連タンパク質 CAD/DFP40 の構造を決定しクロマチン DNA 切断メカニズムを解明した。
13. クロマチン末端テロメア保護因子 TRF2 とテロメア DNA との複合体構造を NMR 法で決定した。既に当研究室で決定していた TRF1 とテロメア DNA 複合体構造と比較することによりテロメア DNA への結合能が強くなった TRF2 変異体の作成に成功した。
14. テロメア保護因子 TRF2 とテロメア DNA の 1 本鎖 3 突出末端が作るグアニン 4 重らせん構造と相互作用することを見出した。
15. hnRNP A1 および hnRNP D タンパク質が、テロメア DNA 等が形成する 4 重鎖構造を破壊して 1 本鎖構造に構造遷移させる事を見出した。また脆弱 X 症候群を引き起こす CGG 配列が繰り返した DNA が特異な構造を形成し、これによって複製が阻害されるが、hnRNP A1 タンパク質は、この特異な DNA 構造を破壊し、この事により複製の阻害が解除される事を見出した。
16. 転写因子 PhoB のフリーの構造と DNA 結合型の構造を NMR で比較したところフリーの構造はナノ秒程度で揺らいでいる 2 種類のコンホマーがあり DNA 結合に伴いその内の 1 つのコンホマーに固定されることが判った。この実験結果について分子動力学計算結果と比較検証している。さらに NMR による転写因子の立体構造解析のためのより高精度なディスタンスジオメトリ計算法を木寺研で開発し転写因子 PhoB の動的な立体構造解析に適用した。
17. 基本転写因子の TFIIIE の質量を MS で正確に測定した結果 TFIIIE はこれまで言われてきたようなヘテロテトラマーではなく のヘテロダイマーであることが判った。さらに超遠心分析や X 線小角散乱法を行って TFIIIE はヘテロダイマーで非常に細長い分子であることを同定した。
18. ヒト cDNA ライブラリーから核内候補遺伝子を見積もり東大菅野研のクローンから転写に関連すると思われる核内候補タンパク質を高い確率で発現に成功した。
19. 転写因子 c-Myb の DNA 結合ドメインを用いて配列の異なる DNA との結合の強さを質量分析法で同定できることが判った。
20. Musashi タンパク質は、標的遺伝子の mRNA に結合して翻訳を阻害する事で、分化における神経細胞の非対称分裂を制御している。N 末側の RNA 結合ドメインの立体構造及び RNA との相互作用様式を決定し、このドメインが C 末側の RNA 結合ドメインに比べて高い RNA 結合能を有するのは、相互作用面における正の表面静電ポテンシャル及びダイナミクスの存在による事を明らかにした。また 2 つの RNA 結合ドメインを連結したものに、主鎖及び側鎖の大部分のシグナルの帰属を終了し、ケミカルシフトパーテーション法により、標的 RNA との相互作用部位の同定も行ってきた。そして 2 つのドメインが順次相互作用する事を見出し、機能発現メカニズムの提唱に至った。
21. 転写因子 ATF-2 の転写活性化ドメインとリン酸化酵素 p38 の相互作用部位を NMR 法で同定した。
22. 遺伝子修復因子 hHR23B 由来ユビキチン様ドメインと S5a-UIM (ubiquitin interacting motif) 複合体の NMR による構造を解析し、UIM の分子認識メカニズムを解明した。
23. 細胞ストレスで転写因子を活性化する JNK1 と基質 (JIP1) 複合体の立体構造を決定した。
24. 酸化ヌクレオチド除去酵素 hMTH1 の溶液構造解析の結果基質の分子認識メカニズムを考察した。
25. 核膜の再構成や ER 依存的タンパク質分解に重要なタンパク質 VCP (CDC48) の N 末端ドメイン類似のフォールドを有する新規ドメインの立体構造を決定した。
26. SUMO 化基質である DNA 修復因子を対象に、SUMO 化にともなう立体構造変化を初めて解析した。
27. PDE5 酵素の X 線結晶構造を解明し阻害剤として、クエン酸シルディナフィル (バイアグラ)、タダラフィル、バデナフィルの 3 種類の複合体の構造を初めて解明した。
28. アレルギー反応に関連するインターロイキン 18 の溶液構造を世界に先駆けて決定し IL18 受容体のサブユニットとの相互作用に関与する部位の同定に成功した。

29. ナンセンスコドンを含む異常 mRNA の認識過程に hSMG-1 による hUPF1 のリン酸化反応と、それに触発された hUPF1 を含むサーベイランス複合体の構造変化が中心的な役割を果たしていた。
30. 表面プラズモン共鳴測定装置を用いて、DNA エlement に結合するタンパク質群を検出単離し、質量分析装置で複合体の構成タンパク質やその翻訳後修飾を解析する方法の開発を行った。
31. 翻訳関連因子の RNA シュドウリジン化タンパク質 RluC と RluD の立体構造解析を行った。
32. マウス複製開始点認識タンパク質 Cdt1 の C 末端ドメインの構造を解析した。
33. カイコのレトロトランスポゾン R1Bm 由来ヌクレアーゼドメインの立体構造を解析した。
34. 基本転写因子 TFIID 中の TAND は TAF1-C, TAF3-N/C, TAF4-N/C, TAF5-N/C, TAF9-N/C, TAF11-N への移植が可能であることが明らかとなった。
35. Swi5-Swi2 及び、Swi5-Sfr1 は、新規 Rhp51mediator であり、前者は接合型変換に特異的に、後者は、組換え修復に特異的に働く。
36. nanoLC と四重極・飛行時間型質量分析装置を組み合わせたシステムとより流量の低い nanoLC とイオントラップ・飛行時間型質量分析装置を用いた 2 次元クロマトグラフィーのシステムも利用できるようになった。
37. 露わに水分子を入れた分子動力学シミュレーションに基づいて、シミュレートドアニーリングによって構造最適化を行うことで、水分子を含めた DNA 結合タンパク質の NMR 法による精密な構造決定を行った。その結果、従来実現できていなかった、DNA のリン酸とタンパク質のアルギニン残基側鎖等とのイオン結合が正しく決定され、また、インターフェイス近傍の水の位置の推定も可能となった。結果として、PROCHECK の統計値の改善が得られ、真空中での計算結果と比較して NMR による全体構造がより結晶構造へ接近した。

2. グループにおけるタンパク質の構造解析について

	平成 17 年 4 月～平成 17 年 10 月末	(参考) 平成 14 年 4 月～平成 17 年 3 月末
(1)PDB登録数 ¹	19	69
(2)構造解析を終了したがPDB登録を保留しているタンパク質の数 ¹	23	25
(3)PDB登録の有無に関わらず構造解析を終了したタンパク質の数 ¹	42	94

3. 論文掲載数 ²

	平成 17 年 4 月～平成 17 年 10 月末	(参考) 平成 14 年 4 月～平成 17 年 3 月末
・件数	46	148

4. 成果の産業連携について ³

	平成 17 年 4 月～平成 17 年 10 月末	(参考) 平成 14 年 4 月～平成 17 年 3 月末
(1)特許出願数 (国内)	3 件	14 件
特許出願数 (海外)	2 件	5 件
(2)成果の産業移転及び産学連携を目的とした共同研究の件数及び内容	<ul style="list-style-type: none"> ● 平成 17 年 4 月～10 月末： 8 件 ● ([参考]平成 14 年 4 月～平成 17 年 3 月末： 8 件) ● 小麦胚芽を用いたタンパク質の無細胞合成システムを利用した核内タンパク質の合成 ((株)セルフリーサイエンス) ● 二重鎖 DNA チップを用いた DNA 結合タンパク質の配列特異性の網羅的同定 (日立ソフトウェア(株)) ● タンパク質結合低分子化合物のハイスループットスクリーニング技術(製薬協 	

	<p>蛋白質コンソーシアム)</p> <ul style="list-style-type: none"> • マイクロチップ電気泳動質量分析装置の開発(島津製作所) • タンパク質回収フロー型 NMR 測定装置の開発(資生堂) • PAD4 の阻害剤リード化合物の探索(協和発酵) • HIV の Tat タンパク質を捕捉するアプタマーに関して、ドラッグデザインを志向した複合体に関する分子動力学シミュレーションを、NEC ソフトと共同して、高速計算機を用いて行った。 • PACAP および PACAP 受容体の構造解析を通じた医薬品開発にむけて、JBIC を通じて武田薬品工業と共同研究中である。
(3)成果の産業移転に関する具体的な例	<ul style="list-style-type: none"> • 安定同位体ラベル DNA の合成法の開発: 15N と 13C の安定同位体でラベルしたモノヌクレオチドを用いて DNA ポリメラーゼにより同位体ラベルした DNA オリゴマーを NMR 測定用に大量に取得する方法を開発した。(大陽日酸) • 二重鎖 DNA チップを用いたテロメア DNA 結合タンパク質の配列特異性の同定: テロメア結合タンパク質 TRF1 や TRF2 とそれらの変異体 8 種類のテロメア DNA 結合能を迅速かつ網羅的に同定するための二重鎖 DNA チップを開発した。(日立ソフトウェア(株)) • 新規遺伝子変異検索法、新規単位タンパク質検索法、さらに重篤な遺伝性疾患に対する治療薬、抗ガン剤などへの利用を目指した、NMD の特異的な阻害剤の開発を行っている。(某製薬会社) • PAD4 の選択的低分子阻害剤のリード化合物探索を行っている。(協和発酵工業(株))
(4)出願した特許の具体的な例	<ul style="list-style-type: none"> • 特願 2003-32233: テロメアタンパク質とグアニン-四重らせん DNA との複合体 • 特願 2004-267770: 神経特異的遺伝子発現に必要なアミノ酸配列 • PCT/JP2004/001220: テロメアタンパク質とグアニン四重らせん DNA の複合体 • PCT/JP2005/016704: 神経特異的遺伝子発現に必要なアミノ酸配列 • 薬剤結合でヘモグロビンの R 状態の酸素親和性を変えることが出来る • 病原性大腸菌由来のヘム結合タンパク質(Hbp)の構造 • PCT/JP2005/001574 名称: ペプチジルアルギニンデイミナーゼ 4 阻害剤 • 生理的なカリウムイオン濃度によって活性がオフからオンにスイッチングされる核酸酵素複合体 • 特願 2003-206609 「インターロイキン 18 変異体蛋白質」 • 特願 2004-231652 「酵母 DSK2 のユビキチン結合ドメインとモノユビキチンとの複合体の構造的特徴および酵母 DSK2 のユビキチン結合ドメインによるモノユビキチン認識機構」 • 特願 2004-350635 「ヒト Vps4b の MIT ドメインと二価または三価の金属イオン複合体の構造的特徴およびヒト Vps4b の MIT ドメインによるホスファチジルイノシトールリン酸認識機構」 • 蛋白質新規フォールディング法(国内・PCT 出願) • 酸化 LDL 受容体の立体構造(国内・PCT 出願) • アゴニスト化合物スクリーニングのための新規 NMR 技術(国内・PCT 出願)
5. 本プロジェクトの推進に係る技術開発に関する成果について ⁴	
1. ユビキチン認識ドメイン UBA ドメインを持つヒトホモログにおいて肝炎ウイルス由来 RNA ポリメラーゼの分解に関与しているとの報告があるため特許出願した。	

2. 顕微分光器装置を用いて、準安定状態を比較的長時間安定に作り出して構造解析することが出来た。
3. PRESAT ベクター法を用いることによるスループットのよい高可溶性のドメイン選択法の開発基本転写因子 TFIIIE の転写能高活性化変異体を作成した。
4. テロメアタンパク質 TRF2 の高 DNA 結合能を有する変異体を作成した。
5. ユビキチン認識モチーフ UIM に保存されている His68 のプロトン化が UIM との結合活性を負に制御していることを発見し、ユビキチンにより強く結合する変異体を創製した。
6. 遺伝子修復・遺伝子複製ならびにエンドサイトーシスの制御に関与しているユビキチン多量体の NMR 解析を行いサブユニットは溶液中で互いに強い相互作用を持たないことを明らかにした。
7. ダイヤモンド様炭素被膜処理したステンレス基板に二次元電気泳動で分離したタンパク質を効率的に転写して多数のタンパク質を固定化したプロテインチップを作成する技術を開発し、プロテインチップ上のタンパク質に相互作用するタンパク質を質量分析装置で検出出来ることを示した。
8. 二重鎖 DNA チップを開発しタンパク質の配列特異的 DNA 結合能を網羅的に検出出来た。
9. タンパク質回収フロー型 NMR 装置を開発しタンパク質とリガンドの結合をスクリーニング出来た。
10. マイクロチップ型電気泳動質量分析装置を開発した。

6. タンパク質の機能解析に関する成果概要

1. ヒストン修飾酵素 PAD4 の活性阻害剤はヒト関節リウマチの治療薬になる可能性が高く、Ca²⁺-free 型と Ca²⁺ 結合型及び基質との複合体結晶構造から酵素と基質との相互作用を明らかにした。
2. 遺伝子修復・遺伝子複製ならびにエンドサイトーシスの制御に関与しているユビキチン多量体の NMR 解析を行いサブユニットは溶液中で互いに強い相互作用を持たないことを明らかにした。
3. カルシウムセンサータンパク質 CBL2 の標的タンパク質リン酸化酵素の認識機構を解析した。
4. 制限酵素 EcoO109I 単体及び DNA との複合体の結晶構造から EcoO109I が 型制限酵素の新規のサブクラスに属すること及び、特異的な DNA の切断の反応様式などを明らかにした。
5. 転写因子 GT-1 タンパク質がリン酸化されると、標的 DNA への結合能が上昇する事が分かった。リン酸化セリン残基をアスパラギン酸に置換した変異体においても、DNA 結合能の上昇が見られた。

7. 平成 16 年度の評価に対する反映状況について

タンパク質の構造解析に実績のあるグループでしかも構造生物学や分子生物学、生化学、生物情報科学からなるグループを形成した。年に 1-2 回のペースで全員が集まって研究内容と研究計画を発表しその場であらためて転写・翻訳という明確な目標を確認している。また評価委員として転写の観点から藤井義明（筑波大）、タンパク質構造の観点から阿久津秀雄（阪大）、企業化の観点から鈴木榮一郎（味の素）各外部委員が加わっている。外部評価委員からは薬物標的タンパク質の構造解析の重要性も指摘され、また創薬との関連を十分に意識して取り組むために、製薬協の蛋白質構造解析コンソーシアムと中核機関の横浜市大との間に基本協定を結び NMR を利用したタンパク質の構造解析技術の普及・向上と創薬を目的とした共同研究事業の創出及び新薬の開発を行うこととした。

8. 中核機関としての独自の目標（解析数、特許出願数等）に対する達成度、定期的な見直し体制等について。平成 16 年度及び平成 17 年度の再委託先一覧を含めること。

タンパク質の構造解析の目標数は平成 14-16 年度に 44 個で平成 17 年度に 16 個で、平成 14 - 18 年度の 5 年間におけるプロジェクトの合計目標数は 80 個である。平成 16 年度末の時点で PDB 登録数が 69 個であり、平成 17 年度 10 月末の時点での総数が PDB 登録総数は 88 個で、構造解析終了数は 111 個なので当初目標を十分に達成したといえる。また有用なタンパク質においては適宜特許化を図る予定で既にタンパク 3000 プロジェクト内だけで国内外を含めて 20 個の特許を出願した。なお研究体制については評価委員の意見を参考にして組んでいる。

表1 再委託先一覧

16年度	17年度	機関名	業務担当者	業務題目
中核	中核	横浜市立大学	西村善文	転写・翻訳関連因子の構造機能解析研究
再委託		横浜国立大学	片平正人 (17年度中核)	NMR と分子生物学による転写・翻訳系のRNA/DNA 結合タンパク質の構造生物学
再委託	再委託	東京大学	嶋田一夫	翻訳制御因子の生化学と NMR による構造解析
再委託	再委託	大阪大学/富山医 科薬科大学	大熊芳明	基本転写因子と転写メディエーターによるRNA ポリメラーゼ の修飾、転写機能調節の解明
再委託	再委託	生物分子工学研究 所	楯 真一	NMR による転写制御関連複合体の機能構造解析
	再委託	京都大学	白川 昌宏 (16年度中核)	NMR による遺伝子の転写・修復およびクロマチン・核膜の制御因子の構造ゲノム科学

9. 中核機関として、外部への広報、サブ機関を含むグループ内部での連携体制の確保をどのように実現しているか⁵

外部への広報としてPDBに登録したタンパク質の構造と本研究成果の論文リストをホームページ上で公開している (<http://www.tsurumi.yokohama-cu.ac.jp/protein3000/top0512.html>)。また雑誌「蛋白質核酸酵素」の2005年6月号特集号「構造ゲノムプロジェクトの進展」の中で代表の西村が「NMRによる蛋白質構造解析」で構造ゲノム科学の現況報告の中で広報している。また製薬協の「蛋白質構造解析コンソーシアム」の総会で代表の西村が「タンパク 3000 中核拠点・横浜市大の蛋白質構造解析・機能解析への取り組み、現況と今後の展開」として成果の概要を講演報告した。また製薬協の「蛋白質構造解析コンソーシアム」の会員に中核機関の横浜市大に来てもらって秘密保持契約のもとに成果を一部開示し持ち帰り検討してもらっている。また第2回日英シンポジウムでの西村による講演報告と第3回日本ヒトプロテオーム機構大会の運営委員長平野久、運営委員プログラム総括として西村が参加し講演報告を行った。2005年日本生化学会のランチョンセミナーでも西村が「ヒト核内タンパク質の構造プロテオミクス」で講演報告した。さらに「よこはまNMR構造生物学研究会」を西村が開催し、構造生物学関連のワークショップを年4回程度開催し、多くのメンバーが参加し意見交換を行っている。

サブ機関との連携では西村と富山大学の熊との間の共同研究、横浜市大の廣明と京大の白川との共同研究、横浜市大内の片平、廣明、古久保と京大の白川の間のイメージング NMR の共同研究、横浜市大内の西村、平野、大野の間のヒト疾患関連タンパク質の共同研究などが行われ意見交換を行っている。

サブ機関を含むグループ内の班会議を平成17年では平成17年3月24日に、外部運営委員の藤井義明(筑波大学)、鈴木榮一郎(味の素)が参加するとともに、研究メンバー、弁理士、文部科学省、横浜市大研究推進課が出席し班会議を開催した。さらに平成17年10月3日にも研究メンバー全員が集まり非公開の研究発表会を行い、お互いの研究内容と今後の予定に関して質疑応答を行いお互いの研究現況を把握し、今後の共同研究に関して意見交換を行った。

10. 各年度の委託費 (百万円)	平成14年度	平成15年度	平成16年度	平成17年度	計
	310	550	230	229	1,319

(別紙)論文のリスト(グループとしての成果を表す代表的な論文 10~20 編程度)

1. Nomura M., Uda-Tochio H., Murai K., Mori N. And Nishimura Y., The Neural Repressor NRSF/REST Binds the PAH1 Domain of the Sin3 Corepressor by Using its Distinct Short Hydrophobic Helix, *J. Mol. Biol.*, **354**, 903-915 (2005) PDB:2CZY
2. Baba, D., Maita, N., Jee, J. G., Uchimura, Y., Saitoh, H., Sugasawa, K., Hanaoka, F., Tochio, H., Hiroaki, H., and Shirakawa, M*., Crystal structure of thymine DNA glycosylase conjugated to SUMO-1 Nature, **435**, 979-982.(2005)(PDB ID:1WYW)
3. Hanaoka S., Nagadoi A. and Nishimura Y., Comparison between TRF2 and TRF1 on their telomeric DNA-bound structures and DNA-binding activities, *Protein Sci.* **14**, 119-130 (2005) PDB ID:1VF9,1VFC
4. Arita K., Hashimoto H., Shimizu T., Nakashima K., Yamada M. and Sato M., Structural basis for Ca²⁺-induced activation of human PAD4, *Nat.Struct.Mol.Biol.*, **11**, 777-783 (2005) PDB ID:1WD8,1WD9,1WDA
5. Hahimoto H., Shimizu T., Imasaki T., Kato M., Shichijo N., Kita K. and Sato M., Crystal Structures of Type II Restriction Endonuclease Eco0109I and Its Complex with Cognate DNA, *J. Biol. Chem.*, **280**, 5605-5610 (2005) PDB ID:1WTD,1WTE
6. Kasai N., Tunaka Y., Ohki I., Hirose S., Morikawa K. and Tate S., Solution structure of the HMG-box domain in the SSRP1 subunit of FACT., *J. Biomol NMR*, **32**, 83-88 (2005) PDB ID:1WXL
7. Tunaka Y., Kajimura N., Tate S. and Morikawa K., Alteration of the nucleosomal DNA path in the crystal structure of a human nucleosome core particle., *Nucleic. Acid. Res.*, **33**, 3424-3434 (2005) PDB ID:2CV5
8. Ikeguchi M., Ueno J., Sato M. and Kidera A., Protein Structural Change upon Ligand Binding: Linear Response Theory, *Phys. Rev. Lett.*, **94**, 078102 1-4 (2005)
9. Ohno A., Jee J., Fujiwara K., Tenno T., Goda N., Tochio H., Kobayashi H., Hiroaki H. and Shirakawa M., Structure of the UBA Domain of Dsk2p in Complex with Ubiquitin: Molecular Determinants for Ubiquitin Recognition, *Structure*, **13**, 521-532 (2005) PDB ID:1WR1
10. Enokizono Y., Konishi Y., Nagata K., Ouhashi K., Uesugi S., Ishikawa F. and Katahira M., Structure of hnRNP D complexed with single-stranded telomere DNA and unfolding of the quadruplex by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein D, *J. Biol. Chem.*, **280**, 18862-18870 (2005) PDB ID:1WTB
11. Okuda M., Tanaka A., Arai Y., Satoh M., Okamura H., Nagadoi A., Hanaoka F., Ohkuma Y. and Nishimura Y., A Novel Zinc Finger Structure in the Large Subunit of Human General Transcription Factor TFIIIE, *J. Biol.Chem.*, **279**, 51395-51403 (2004) PDB ID:1DV4
12. E-J Woo, Y-G. Kim, M-S. Kim, W-D. Han, S. Shin, H. Robinson, S.-Y. Park, B-H. Oh, Structural Mechanism for Inactivation and Activation of CAD/DFF40 in the Apoptotic Pathway, *Mol. Cell*, **14**, 531-539 (2004) PDB ID:1VOD
13. Y-S. Heo, S-K. Kim, C.I. Seo, Y.K. Kim, B-J. Sung, H.S. Lee, S.-Y. Park, J.H. Kim, K.Y. Hwang, Y-L. Hyun, Y.H. Jeon, S. Ro, J.M. Cho, T. G. Lee, C-H, Yang, Structural basis for the selective inhibition of JNK1 by the scaffolding protein JIP1 and SP600125, *EMBO J.*, **23**, 2185-2195 (2004) PDB ID:1UHK,1UKI
14. Fujiwara K., Tennno T., Sugawara K., Jee JG. Ohki I., Kojima C., Tochio H., Hiroaki H., Hanaoka F., Shirakawa M., Structure of the Ubiquitin-interacting Motif of S5a Bound to the Ubiquitin-like Domain of HR23B, *J. Biol. Chem.*, **279**, 4760-4767 (2004) PDB ID:1UEL

15. Kato Z., Jee. J.-G., Shikano H., Mishima M., Ohki I., Ohnishi H., Li A., Hashimoto K., Matsukuma E., Omoya K., Yamamoto Y., Yoneda T., Hara T., Kondo N. and Shirakawa M., The structure and binding mode of interleukin-18, *Nture Struct. Biol.*, **10**, 966-971 (2003) PDB ID:1JOS
16. Nagae M., Nozawa A., Koizumi N., Sano H., Hashimoto H., Sato M. and Shimizu T., The crystal structure of the novel calcium binding protein AtCBL2 from Arabidopsis thaliana, *J. Biol. Chem.*, **278**, 42240-42246 (2003) PDB ID:1UHN
17. Akamatsu Y., Dziadkowiec D., Ikeguchi M., Shinagawa H., Iwasaki H., Two different Swi5-containing protein complexes are involved in mating-type switching and recombination repair in fission yeast., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 15770-15775 (2003)
18. J. Heddle, D.J. Scott, S. Unzai, S.-Y. Park, J.R.H. Tame, Crystal structures of the liganded and unliganded nickel binding protein NikA from Escherichia coli, *J. Biol. Chem.*, **278**, 50322-50329 (2003) PDB ID:1UIU,1UHO
19. B.-J. Sung, K.Y. Hwang, Y.H. Jeon, J.I. Lee, Y.-S. Heo, J.H. Kim, J.M. Yoon, Y.-L. Hyun, E. Kim, S.J. Eum, S.-Y. Park, J.-O. Lee, T.G. Lee, S. Ro, J. M. Cho, Structure of the catalytic domain of human phosphodiesterase 5 with bound drug molecules, *Nature*, **425**, 98-102 (2003) PDB ID:1UDT,1UDU,1UHO
20. Miyanoiri Y., Kobayashi H., Imai T., Watanabe M., Nagata T., Uesugi S., Okano H. and Katahira M., Origin of higher affinity to RNA of the N-terminal RNA-binding domain than that of the C-terminal one of a mouse neural protein, Musashi1, as revealed by comparison of their structures, modes of interaction, surface electrostatic potentials and backbone dynamics, *J. Biol. Chem.*, **278**, 41309-41315 (2003) PDB ID:1UAW