

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：24506

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2012～2016

課題番号：24112009

研究課題名(和文)選択的ユビキチン識別機構の構造生物学

研究課題名(英文)Structural studies for specific recognition of ubiquitin signals

研究代表者

水島 恒裕(MIZUSHIMA, TSUNEHIRO)

兵庫県立大学・生命理学研究科・教授

研究者番号：90362269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 89,700,000円

研究成果の概要(和文)：ユビキチン化修飾は多様な生命現象制御において重要な役割を担っている。これはユビキチン鎖による多様な修飾様式が無数の情報伝達を可能としていることによる。また、ユビキチン修飾経路は、ユビキチン結合タンパク質、ユビキチンリガーゼ等、多くのタンパク質により制御されている。そこで、これらタンパク質による反応制御の機構を、立体構造を基盤とした解析により構造生物学的側面から理解することを目的とした。その結果、ユビキチン制御経路に関わるBAG6、FBG3、HOIP、Keap1やユビキチン経路に作用する病原菌タンパク質OspI、IpaH9.8の立体構造を決定し、その反応機構を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Ubiquitin modification controls various cellular processes, such as cell cycle control and protein quality control. This modification provides countless possibilities to assemble a specific polymer. Ubiquitin modification pathway is regulated by a variety of proteins including ubiquitin binding proteins, ubiquitin ligases and deubiquitinating enzymes. To elucidate the molecular mechanisms of ubiquitination pathway, we determined the crystal structures of ubiquitin binding protein, BAG6 and ubiquitin ligases, FBG3, HOIP and Keap1. Moreover, we have determined the structures of bacterial effectors, OspI and IpaH9.8 that manipulate the host ubiquitin pathway. These structures provide the substrate recognition and functional mechanisms.

研究分野：構造生物学

キーワード：蛋白質 ユビキチン 構造生物学 分子認識 X線結晶構造解析

## 1. 研究開始当初の背景

ユビキチンは真核生物に高度に保存された翻訳後修飾タンパク質であり、特異的タンパク質分解のためのシグナル分子として発見され研究が行われてきた。しかしながら、研究の進展により、ユビキチンの機能は分解に留まらず、多様な役割を果たすことが明確となってきた。ユビキチン修飾は、ユビキチンが標的タンパク質に1分子結合するモノユビキチン化、ユビキチン分子内に7個存在するリジン(K6、K11、K27、K29、K33、K48、K63)およびN末端のメチオニン(M1)を介し、8種類の連結様式によりユビキチンが数珠上に連なるポリユビキチン鎖、標的タンパク質の複数個所に結合するマルチプルユビキチン化など、非常に多様であり、その構造的多様性が膨大な情報伝達を可能にする分子基盤であると考えられている。ユビキチン修飾はDNA修復、転写、膜タンパク質制御、刺激伝達など多様な生命現象に関わっており、我々はこれまでにユビキチン修飾系に関わる酵素群の構造生物学的研究を進めてきた。特に分解とは異なる新たなシグナルとしての役割を果たす、M1を介して形成されたユビキチン鎖を認識するNEMOとユビキチン鎖の複合体構造解析や、標的タンパク質に特異的にユビキチンを付加するユビキチンリガーゼの構造解析において、多くの成果を上げてきた。そこで、ユビキチン修飾経路の各段階において選択的なユビキチン識別に関わるタンパク質およびユビキチン鎖の構造解析を行い、それらによる調節機構を、立体構造を基盤とした構造生物学的側面から解析することを目的とした。

## 2. 研究の目的

### (1) ユビキチン識別タンパク質の立体構造解析及び識別機構の解明

多様な連結様式により生命現象の制御に関わるユビキチン修飾を、ユビキチン鎖の違いを認識することで正確に情報伝達するユビキチン結合ドメインの立体構造解析を行い、識別機構解明を目指す。

### (2) ユビキチンリガーゼの構造解析によるユビキチン鎖生成機構の解明

ユビキチン鎖はそれぞれに対応したユビキチン結合酵素(E2)とユビキチンリガーゼ(E3)により形成される。機能的に重要な働きを持ったE3の構造解析を行い、特異的な基質認識やユビキチン修飾機構を解析する。

### (3) ユビキチン修飾経路を制御するタンパク質群の構造生物学的解析

ユビキチン修飾経路は細胞内において多様な役割を果たしており、その中の一つに免疫応答の制御がある。病原性微生物はエフェクターと呼ばれるタンパク質により、宿主の防御反応を阻害しており、それらの一部はユビキチン経路を阻害している。ユビキチン経路を制御するエフェクターの構造解析を行い、感染機構の解析を行う。

### (4) ユビキチン系構造解析のための手法開発

ユビキチン修飾による生命制御を構造学的手法により解析するため手法開発を行う。

## 3. 研究の方法

### (1) ユビキチン識別タンパク質の立体構造解析及び識別機構の解明

#### BAG6-Ubl4aの結晶構造解析

高等真核生物に存在するBAG6は、N末端部にユビキチン相同領域を、C末端部に既知のBAGドメインと相同とされる配列を持ち、TAタンパク質(C末端に膜貫通領域を持つ膜タンパク質)を膜にアッセンブルするGet pathwayでUbl4aと協調して働く。BAG6とUbl4aの相互作用部位の解析および複合体の結晶構造解析を行った。

### (2) ユビキチンリガーゼの構造解析によるユビキチン鎖生成機構の解明

#### Skp1-FBG3結晶構造解析による糖タンパク質認識F-boxの構造的特徴の解析

SCF E3は共通サブユニットCul1、Skp1、Rbx1と基質認識を行う可変サブユニットF-boxタンパク質から成るE3である。FBG3は糖タンパク質を基質とするF-box Fbsファミリーと高いアミノ酸配列相同性を持つが、糖タンパク質と結合しない。この特異的な機能と立体構造の相関を解析するため、Skp1-FBG3複合体のX線結晶構造解析を行った。さらに、Fbsファミリーに属するFbs1とFBG3の構造の比較に基づき作製した変異体とRNaseBの相互作用解析、Fbs1基質認識部位ループ変異体のX線結晶構造解析を行った。

#### Keap1 DC-リン酸化p62ペプチド複合体構造解析

ユビキチンリガーゼKeap1によるNrf2のユビキチン化修飾を介した分解は酸化ストレス耐性経路の主要な役割を果たしている。さらに、Nrf2/Keap1経路の調節には、p62タンパク質による、Keap1のオートファジー分解が関与している。本研究では、Keap1の制御にp62のリン酸化が重要であることを示すと共に、Keap1の基質認識部位(Keap1 DC)とリン酸化p62の複合体構造解析を行った。

#### Keap1 DC-Nrf2 DLGex複合体構造解析

Keap1はホモ2量体を形成し、それぞれのKeap1 DCでNrf2の異なる部位を認識している。これまでにKeap1 DCとNrf2の異なる2カ所の結合部位(ETGE、DLG)との複合体構造が報告された(Keap1 DC-ETGE、Keap1 DC-DLG)。しかし、Nrf2はDLG領域より広いDLGexでKeap1と強く結合することを見出し、DLGexとの複合体構造解析を行った。

#### Keap1 DC-K67複合体構造解析

p62はKeap1をオートファジーによる分解へと導く。肝がん細胞ではこの制御の異常によりNrf2が恒常的に活性化していることから、Keap1とp62の相互作用の阻害剤は肝細胞がんの治療薬になると考えられた。そこで、化合物スクリーニング、阻害化合物K67とKeap1 DCのX線結晶構造解析を行った。

#### NEMO-HOIP NZF複合体構造解析

直鎖状ポリユビキチンにより制御を受ける NF- $\kappa$ B 経路の NEMO タンパク質と E3 HOIP の相互作用部位の複合体 X 線結晶構造解析を行った。

(3) ユビキチン修飾経路を制御するタンパク質群の構造生物学的解析

OspI-Ubc13 複合体構造および機能解析

赤痢菌エフェクター-OspI は宿主 Ubc13 の Q100 を脱アミド化することで、TRAF6 を介した防御反応を阻害している。OspI による Ubc13 認識機構の解明を目指し、OspI-Ubc13 複合体の精製、結晶構造解析を行った。

IpaH9.8 基質認識ドメイン構造解析

IpaH ファミリーは N 末側の基質認識ドメイン(LRR)と C 末側のユビキチンリガーゼドメイン(NEL)により形成される病原性細菌に特有のユビキチンリガーゼである。IpaH9.8 は宿主細胞の炎症性サイトカイン遺伝子の発現に必要な転写因子 NF- $\kappa$ B の活性化に関わる NEMO を LRR で認識し、ユビキチン化修飾により分解へと導いている。IpaH9.8 LRR による NEMO 認識機構の解明を目指し、IpaH9.8 LRR の X 線回折実験を行った。

(4) ユビキチン系構造解析のための手法開発 結晶化、回折実験効率化方法の開発

ユビキチン関連タンパク質およびその複合体の結晶構造解析を推進するにあたり、結晶化スクリーニングとそれに続く X 線回折実験の効率化は重要である。そこで、効率よく実験を行うシステムの開発を行った。

4. 研究成果

(1) BAG6-Ubl4a の結晶構造解析

BAG6、Ubl4a それぞれの相互作用領域複合体構造解析の結果、BAG6 は既知の BAG ドメインと全く異なる構造をとり、Ubl4a と強固な複合体を形成することが示された。これにより、酵母 Get5 との分子機構の違いが明らかとなり、変異体実験から細胞内でのタンパク質の寿命に関わることを明らかにした。

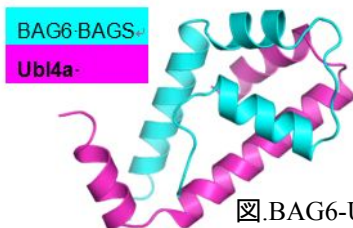


図.BAG6-Ubl4a 複合体構造

(2) Skp1-FBG3 結晶構造解析による糖タンパク質認識 F-box の構造的特徴の解析

Skp1-FBG3 複合体構造より、FBG3 はこれまでに報告された糖タンパク質の糖鎖を認識する Fbs1 と類似した全体構造を示すが、糖鎖結合部位は異なる独自の立体構造を形成することを示した。また、FBG3 と Fbs1 の糖鎖結合部位を形成する、それぞれの重要なループ領域のアミノ酸配列を交換することで、機能を入れ替えた変異体を作製し糖鎖結合部位形成に重要なアミノ酸を特定した。さらに、FBG3 のループ配列に置き換えることで糖タンパク質との結合活性を消失させた

Fbs1 の基質認識領域の構造を決定し、活性部位形成におけるアミノ酸配列の役割を考察した。

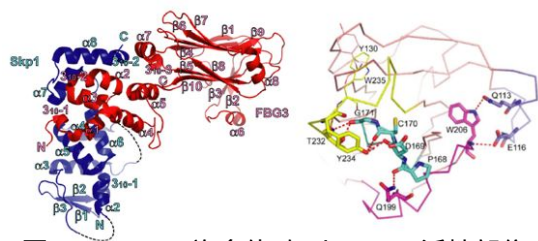


図.Skp1-FBG3 複合体(左)と FBG3 活性部位(右)

Keap1 DC-リン酸化 p62 ペプチド複合体構造解析

Keap1 DC とリン酸化 p62 の複合体構造解析より、p62 はリン酸化により Keap1 との間に新たな水素結合を形成することで、親和性を上昇する分子機構を明らかにした。

Keap1 DC-Nrf2 DLGex 複合体構造解析

Keap1 DC と DLGex の複合体構造より DLGex は 3 本のヘリックス構造を形成し Keap1 DC と結合しており、Keap1 が共通のドメインを用い、Nrf2 の ETGE と DLGex を全く異なる様式で認識していることを示した。また、それぞれ親和性の解析より、異なる親和性で結合することにより複合体状態を調節し、機能することを明らかにした。

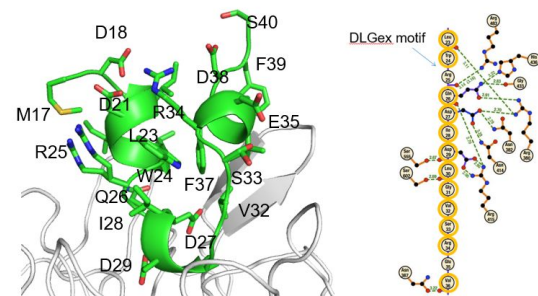


図.Keap1 DC-DLGex 構造と結合模式図

Keap1 DC-K67 複合体構造解析

p62 結合阻害化合物のスクリーニングより、Nrf2 を阻害せず p62 に対してのみ効果を持つ K67 を見出した。さらに K67 と Keap1 DC の X 線結晶構造、Keap1 DC と K67、Nrf2 の 3 者複合体モデルにより、K67 は DLGex と共存し p62 を特異的に阻害可能な結合様式をとることを明らかにした。

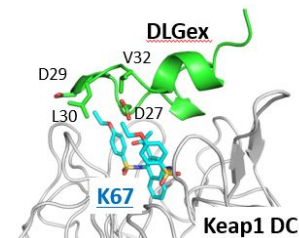


図.K67 による Keap1 阻害モデル

NEMO-HOIP NZF 複合体構造解析

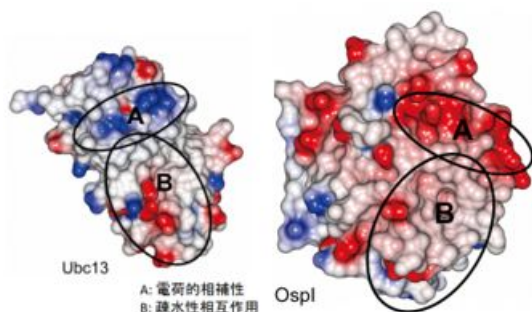
NEMO と HOIP NZF の複合体構造を決定し、NF- $\kappa$ B 経路制御機構の一端を明らかにした。

(3) OspI-Ubc13 複合体構造および機能解析

OspI と宿主内標的タンパク質 Ubc13 の複合体結晶構造解析より Ubc13 の Q100 の側鎖が OspI の活性部位に向かって伸びているこ



とを示した。また、立体構造に基づき行った変異体の相互作用解析より、OspI と Ubc13 は疎水性相互作用と電荷的な相補性による 2



種類の異なる相互作用により複合体を形成していることを示した。

図. OspI と Ubc13 の複合体界面の表面電荷(結合部位を丸で表示 赤:酸性、青:塩基性)

IpaH9.8 基質認識ドメイン構造解析

IpaH9.8 LRR の構造はこれまでに立体構造既知な IpaH ファミリー(IpaH3)の LRR 構造とは異なり、中央に正の電荷表面を持つことを示した。

(4) 結晶化、回折実験効率化方法の開発

結晶化スクリーニングから効率よく回折実験を行うため、結晶化スクリーニングを自動化する装置の性能向上、放射光 X 線回折ビームラインにより結晶化プレートから直接回折実験が行える装置の開発を行った。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 14 件)

Nishio K., Yoshida Y., Tanaka K., Mizushima T. Structural analysis of a function-associated loop mutant of the substrate recognition domain of Fbs1 ubiquitin ligase. *Acta Cryst F72*, 2016, 619-626. 査読有

DOI:10.1107/S2053230X16011018

Yamada Y., Hiraki M., Matsugaki N., Kato R., Senda T. In-situ data collection at the photon factory macromolecular crystallography beamlines. *AIP Conf. Proc.* 1741, 2016, 050023 査読有

DOI: <http://dx.doi.org/10.1063/1.4952943>

Saito T., Ichimura Y., Taguchi K., Suzuki T., Mizushima T., Takagi K., Hirose Y., Nagahashi M., Iso T., Fukutomi T., Ohishi M., Endo K., Uemura T., Nishito Y., Okuda S., Obata M., Kouno T., Imamura R., Tada Y., Obata R., Yasuda D., Takahashi K., Fujimura T., Pi J., Lee MS., Ueno T., Ohe T., Mashino T., Wakai T., Kojima H., Okabe T., Nagano T., Motohashi H., Waguri S., Soga T., Yamamoto M., Tanaka K., Komatsu M. p62/Sqstm1 promotes malignancy of HCV-positive hepatocellular carcinoma through Nrf2-dependent metabolic reprogramming. *Nat Com.* 7, 2016, Article number:12030. 査読有

DOI: 10.1038/ncomms12030

Suzuki N., Rohaim A., Kato R., Dikic I., Kawasaki M. A novel model of ubiquitin recognition by the ubiquitin-binding zinc finger

domain of WRNIP1. *FEBS Letters*, 283, 2016, 2004-2017. 査読有 DOI: 10.1111/febs.13734

Takagi K., Kim M., Sasakawa C., Mizushima T. Crystal structure of the substrate recognition domain of Shigella IpaH9.8 E3 ligase. *Acta Cryst F72*, 2016, 269-275. 査読有

DOI: 10.1107/S2053230X16002715

Tanaka H., Takahashi T., Xie Y., Minami R., Yanagi Y., Hayashishita M., Suzuki R., Yokota N., Shimada M., Mizushima T., Kuwabara N., Kato R., Kawahara H. A conserved island of BAG6/Scythe is related to ubiquitin domains and participates in short hydrophobicity recognition. *FEBS J.* 283, 2016, 662-677. 査読有

DOI: 10.1111/febs.13618.

Kumanomidou T., Nishio K., Takagi K., Nakagawa T., Suzuki A., Yamane T., Tokunaga F., Iwai K., Murakami A., Yoshida Y., Tanaka K., Mizushima T. The Structural Differences between a Glycoprotein Specific F-box Protein Fbs1 and its Homologous Protein FBG3. *PLoS One*, 10 2015, e0140366. 査読有

DOI: 10.1371/journal.pone.0140366

Kimura Y., Tanigawa M., Kawawaki J., Takagi K., Mizushima T., Maeda T., Tanaka K. Conserved model of yeast Bro1 family V domains for interaction with YP(X)nL motif-containing target proteins. *Eukaryot Cell*, 14, 2015, 976-982. 査読有 DOI: 10.1128/EC.00091-15.

Kuwabara N., Minami R., Yokota N., Matsumoto H., Senda T., Kawahara H., Kato R., Structure of a BAG6 (Bcl-2-associated athanogene 6)-Ubl4a (ubiquitin-like protein 4a) complex reveals a novel binding interface that functions in tail-anchored protein biogenesis. *J. Biol Chem.* 290, 2015, 9387-9398. 査読有

DOI: 10.1074/jbc.M114.631804

Kim M., Otsubo R., Morikawa H., Nishide A., Takagi K., Sasakawa C., Mizushima T. Bacterial Effectors and Their Functions in the Ubiquitin-Proteasome System: Insight from the Modes of Substrate Recognition. *Cells*, 3, 2014, 848-864. 査読有 DOI: 10.3390/cells3030848.

Fujita H., Rahighi S., Akita M., Kato R., Sasaki Y., Wakatsuki S., Iwai K. Mechanism underlying I $\kappa$ B kinase activation mediated by the linear ubiquitin chain assembly complex. *Moll Cell Biol.*, 34, 2014, 1322-1335. 査読有

DOI: 10.1128/MCB.01538-13

Fukutomi T., Takagi K., Mizushima T., Ohuchi N., Yamamoto M. Kinetic, Thermodynamic and Structural Characterizations of Association between Nrf2-DLGex Degron and Keap1. *Moll Cell Biol.*, 34, 2014, 832-846. 査読有

DOI: 10.1128/MCB.01191-13.

Ichimura Y., Waguri S., Sou Y., Kageyama S., Hasegawa J., Ishimura R., Saito T., Yang Y., Kouno T., Fukutomi T., Hoshii T., Hirao A., Takagi K., Mizushima T., Motohashi H., Lee M., Yoshimori T., Tanaka K., Yamamoto M.,

Komatsu M. Phosphorylation of p62 activates the Keap1-Nrf2 pathway during selective autophagy. *Mol Cell* 51, 2013, 618-631. 査読有  
DOI: 10.1016/j.molcel.2013.08.003.

Nishide A., Kim M., Takagi K., Himeno A., Sanada T., Sasakawa C., Mizushima T. Structural basis for the recognition of Ubc13 by the Shigella flexneri effector OspI. *J Mol Biol.* 425, 2013, 2623-2631. 査読有  
DOI: 10.1016/j.jmb.2013.02.037.

[学会発表](計 42 件)

Nishio K., Mizushima T. 他, Structural basis for the recognition of citrate synthase, Cit2 by F-box protein Ucc1, The annual evaluation conference of the leading program, 2016, 2017 年 3 月 13-14 日、先端科学技術支援センター(CAST) (兵庫県赤穂郡)

水島恒裕、ユビキチン-プロテアソーム経路による生命制御の分子メカニズム、徳島大学薬学部講演会、2017 年 3 月 1 日、徳島大学薬学部 (徳島県徳島市)

水島恒裕、バクテリアの感染戦略：エフェクターによる宿主防御経路の阻害機構、第 4 回県立健康生活科学研究所・理学部合同研究発表会、2017 年 2 月 10 日、兵庫県大(兵庫県赤穂郡)

水島恒裕、病原細菌エフェクターによる宿主防御経路阻害の分子メカニズム、神戸大学/兵庫県立大学間交流セミナー、2017 年 1 月 6 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

西出旭、水島恒裕 他、構造学的手法を用いた赤痢菌エフェクター IpaH ファミリーの反応機構の解析、日本分子生物学会年会、2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

森山周、水島恒裕 他、クエン酸合成酵素 Cit2 およびリガンド複合体の結晶構造解析、日本分子生物学会年会、2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

西尾和也、水島恒裕 他、F-box タンパク質 Ucc1 によるクエン酸合成酵素 Cit2 の認識機構、日本分子生物学会年会、2016 年 11 月 30 日-12 月 2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

高木賢治、水島恒裕、p62 を介した Keap1、LC3 複合体状態の解析、日本生化学会大会、2016 年 9 月 26 日、仙台国際センター (宮城県仙台市)

西出旭、水島恒裕 他、赤痢菌エフェクター-OspI 触媒機構の解明、日本蛋白質科学会年会、2016 年 6 月 7-9 日、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

高木賢治、水島恒裕 他、赤痢菌エフェクター-IpaH9.8 による NEMO 認識機構の解析、日本蛋白質科学会年会、2016 年 6 月 7-9 日、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

Nishio K., Mizushima T. 他, Structural basis for the recognition of phosphorylated USP8 by 14-3-3 epsilon., The annual evaluation conference of the leading program, 2016 年 3 月

14-15 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Takagi K., Mizushima T. 他, Structure and recognition mechanism of IpaH9.8 LRR., The annual evaluation conference of the leading program, University of Hyogo 2015, 2016 年 3 月 14-15 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Nishide A., Mizushima T. 他, Structural analysis of reaction mechanism of Shigella flexneri effector OspI. The annual evaluation conference of the leading program, 2016 年 3 月 14-15 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Nishio K., Mizushima T. 他, Structural differences between sugar-recognizing F-box protein Fbs1 and homologous protein FBG3., 3rd International Picobiology Institute Symposium. Structural and biological studies on pathogenic and therapeutic targets 2015 年 12 月 8-9 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Takagi K., Kim M., Mizushima T. 他, Structure and substrate recognition mechanism of IpaH9.8 LRR., 3rd International Picobiology Institute Symposium. Structural and biological studies on pathogenic and therapeutic targets 2015 年 12 月 8-9 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Nishide A., Mizushima T. 他, Structural analysis of reaction mechanism of Shigella flexneri effector OspI., 3rd International Picobiology Institute Symposium. Structural and biological studies on pathogenic and therapeutic targets 2015 年 12 月 8-9 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Otsu S., Mizushima T. 他, Structural analysis of the recognition mechanism of NEMO by shigella effector IpaH9.8., 3rd International Picobiology Institute Symposium. Structural and biological studies on pathogenic and therapeutic targets 2015 年 12 月 8-9 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

Suzuki E., Mizushima T. 他, Structural analysis of the recognition mechanism of phosphorylated USP8 by 14-3-3 epsilon., 3rd International Picobiology Institute Symposium. Structural and biological studies on pathogenic and therapeutic targets 2015 年 12 月 8-9 日、CAST (兵庫県赤穂郡)

西川周平、加藤龍一 他、脱ユビキチン化酵素 USP37 におけるユビキチン結合モチーフ UIM の機能解析、BMB2015、2015 年 12 月 1-4 日、神戸ポータルランド (兵庫県神戸市)

西尾和也、水島恒裕 他、14-3-3 蛋白質における脱ユビキチン化酵素 USP8 の機能制御機構の構造基盤、日本結晶学会年会、2015 年 10 月 17-18 日、大阪府大 (大阪府堺市)

① 大津彩織、水島恒裕 他、赤痢菌エフェクタータンパク質 IpaH9.8 による NEMO の認識機構の解析、日本結晶学会年会、2015 年 10 月 17-18 日、大阪府大 (大阪府堺市)

② 西出旭、水島恒裕 他、赤痢菌エフェクター-OspI 触媒機構の解明、日本結晶学会年会、2015 年 10 月 17-18 日、大阪府大 (大阪府堺市)

②③ 水島恒裕、赤痢菌エフェクターOspI による免疫阻害機構の解析、大阪大学蛋白質研究所セミナー、2015年8月27-28日、大阪大学蛋白質研究所(大阪府吹田市)

②④ Takagi K., Crystal structure of Shigella effector IpaH9.8 substrate recognition domain., 新学術領域研究平成 27 年度若手ワークショップ、2015年7月2日、アピカルイン京都 (京都府京都市)

②⑤ 高木賢治、水島恒裕 他、赤痢菌エフェクターIpaH9.8 基質認識ドメインのX線結晶構造解析、日本蛋白質科学会年会、2015年6月24-26日、あわぎんホール (徳島県徳島市)

②⑥ 桑原直之、加藤龍一 他、新生タンパク質の品質管理に關与する BAG6-Ubl4a 複合体の構造機能解析、物構研サイエンスフェスタ、2015年3月17日、つくば国際会議場 (茨城県つくば市)

②⑦ Nishide A., Mizushima T. 他, Structural Basis for the Recognition of Ubc13 by the Shigella flexneri Effector OspI, The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, Mar. 16-17, 2015, CAST (兵庫県赤穂郡)

②⑧ Nishio K., Mizushima T. 他, Structural basis for sugar-recognition mechanism of ubiquitin ligase SCF Fbs1, The Annual Evaluation Conference of the Leading Program, Mar. 16-17, 2015, CAST (兵庫県赤穂郡)

②⑨ 水島恒裕、赤痢菌病原因子の構造解析による作用機構の解明と創薬への応用、東京大学医科学研究所共同研究拠点成果報告会、2015年3月6日、東大医科研 (東京都港区)

③⑩ Nishide A., Mizushima T. 他, Structural Basis for the Recognition of Ubc13 by the Shigella flexneri Effector OspI, Symposium for young ubiquitin researchers in Japan "New Era in the Ubiquitin Research", Nov. 11-12, 2014, 国際高等研究所 (京都府木津川市)

③⑪ Takagi K., Nishide A., Mizushima T., Structure and substrate recognition mechanism of IpaH9.8 LRR, Symposium for young ubiquitin researchers in Japan "New Era in the Ubiquitin Research" Nov. 11-12, 2014, 国際高等研究所 (京都府木津川市)

③⑫ 高木賢治、水島恒裕、赤痢菌エフェクターIpaH9.8 基質認識ドメインのX線結晶構造解析、日本結晶学会、2014年11月1-3日、東京大学 (東京都文京区)

③⑬ Mizushima T., Structural analyses of bacterial effectors and their mechanisms of infection in the ubiquitin-proteasome system, 2nd International Picobiology Institute Symposium, 2014年10月9-10日、CAST (兵庫県赤穂郡)

③⑭ Nishio K., Mizushima T. 他, Structural basis for sugar-recognition mechanism of ubiquitin ligase SCF Fbs1, 2nd International Picobiology Institute Symposium, 2014年10月9-10日、CAST (兵庫県赤穂郡)

③⑮ 西出旭、水島恒裕、赤痢菌エフェクターOspI の結晶構造解析による感染機構の解明、

知の交流シンポジウム、2014、2014年9月24日、姫路商工会議所 (兵庫県姫路市)

③⑯ Nishio K., Mizushima T. 他, Structural basis for sugar-recognition mechanism of ubiquitin ligase SCF Fbs1, 1<sup>st</sup> international Picobiology Institute Symposium, Jan. 7-8, 2014, RIKIEN HARIMA (兵庫県佐用郡)

③⑰ 西尾和也、水島恒裕 他、ユビキチンリガゼ SCFFbs1 の糖鎖認識機構の構造基盤、日本結晶学会年会、2013年10月12-13日、熊本大学 (熊本県熊本市)

③⑱ Nishide A., Mizushima T. 他, Structural basis for the recognition of Ubc13 by the Shigella flexneri effector OspI, The 35<sup>th</sup> Naito Conference, 2013年7月9-12日、シャトレゼガトキョクダムサポロ (北海道札幌市)

③⑲ 西出旭、水島恒裕 他、OspI-Ubc13 複合体構造解析による赤痢菌エフェクタータンパク質の E2 酵素認識機構、日本蛋白質科学会年会、2013年6月12-14日、とりぎん文化会館 (鳥取県鳥取市)

④⑰ 水島恒裕、プロテアソーム複合体構造とシャペロンによる形成機構、日本生化学会大会、2012年12月14-16日、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

④⑱ 山田悠、加藤龍一 他、若槻壮市、PF構造生物学研究センターにおける創薬等支援基盤プラットフォームによる構造生物学研究の支援と高度化、日本生化学会、2012年12月14-16日、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

④⑳ 加藤龍一 他、創薬等支援基盤プラットフォームによるフォトンファクトリーにおける構造生物学研究の支援と高度化、日本分子生物学会、2012年12月11-14日、福岡国際会議場 (福岡県福岡市)

〔図書〕(計 1 件)

Kishimoto S ed. in "Photon Factory Activity Report 2011, Part A, Highlights and Facility Report" Structural Biology Research Center, 高エネルギー加速器研究機構図書館, 2012, 195  
〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

水島 恒裕 (MIZUSHIMA, Tsunehiro)

兵庫県立大学・大学院生命理学研究科・教授  
研究者番号：90362269

### (2)研究分担者

加藤 龍一 (KATO, Ryuichi)

高エネルギー加速器研究機構・物質構造科学研究所・准教授

研究者番号：50240833

### (3)連携研究者

### (4)研究協力者

桑原 直之 (KUWABARA, Naoyuki)

高木 賢治 (TAKAGI, Kenji)