

水島恒裕・月原富武（特任）

Mizushima, T., Tsukihara, T.

## I ユビキチン - プロテアソームタンパク質分解経路 反応機構の解明

X-ray structural analysis of the ubiquitin proteasome protein degradation pathway.

ユビキチン - プロテアソームタンパク質分解経路は生体内において不要タンパク質を特異的に認識し分解することにより、細胞周期の制御やタンパク質の品質管理といった、多くの生体機能調節に関わっている。本経路において特異的なタンパク質分解の役割を担う 26S プロテアソームは分子量 250 万、66 のサブユニットからなる超分子複合体を形成し機能している。26S プロテアソームの立体構造の解析によりその反応機構の解明を目指す。

## II 高分解能 X 線結晶構造解析によるチトクロム *c* 酸化酵素の プロトンポンプ機構の解明

X-ray structural analysis of cytochrome *c* oxidase to understand  
proton pumping mechanism

チトクロム *c* 酸化酵素は、酸素を水に還元することによって得られる自由エネルギーによって、プロトンの能動輸送を行っている。これまでに分子を構成する非水素原子の構造に基づいてプロトン能動輸送の仕組みを提案してきた。しかし、この仕組みの理解を深めるためには、水素原子の存在まで決めることが求められている。これを実現できる可能性の最も高い方法である X 線結晶構造解析の方法を開発し、水素原子位置を決定する構造解析を実現する。

## III 物質輸送に関わる生体超分子の構造と輸送の仕組みの解明

Structural studies on intracellular and intercellular transport

生体内での“輸送”には、蛋白質内部、細胞内、オルガネラ間や細胞間の膜を介したものがあり、それぞれエネルギー変換や細胞の働きの制御に深く関わっている。輸送を担っている蛋白質複合体の構造を決定して、輸送の仕組みを明らかにする。

## 発表論文 List of Publications

- 1 Arima, K., Kinoshita, A., Mishima, H., Kanazawa, N., Kaneko, T., Mizushima, T., Ichinose, K., Nakamura, H., Tsujino, A., Kawakami, A., Matsunaka, M., Kasagi, S., Kawano, S., Kumagai, S., Ohmura, K., Mimori, T., Hirano, M., Ueno, S., Tanaka, K., Tanaka, M., Toyoshima, I., Sugino, H., Yamakawa, A., Tanaka, K., Niikawa, N., Furukawa, F., Murata, S., Eguchi, K., Ida, H. and Yoshiura, K. Assembly defect due to a PSMB8 mutation reduces proteasome activity and causes the autoinflammatory disorder, Nakajo-Nishimura syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **108**, 14914-14919. (2011)
- 2 Yagi-Utsumi, M., Takemoto, E., Hiromoto, T., Satoh, T., Mizushima, T. and Kato, K., Conformational dynamics of wild-type Lys-48-linked diubiquitin in solution. Hirano, T., Serve, O., *J. Biol. Chem.* **286**, 37496-37502. (2011)
- 3 Mizushima, T., Yagi, H., Takemoto, E., Shibata-Koyama, M., Iida, S., Isoda, Y., Masuda, K., Satoh, M. and Kato, K., Structural basis for improved efficacy of therapeutic antibodies upon defucosylation of their Fc glycans. *Genes to Cells* **16**, 1071-1080. (2011)
- 4 Takagi, K., Kim, S., Yukii, H., Ueno, M., Morishita, R., Endo, Y., Kato, K., Tanaka, K., Saeki, Y. and Mizushima, T. Structural basis for specific recognition of Rpt1p, an ATPase subunit of 26S proteasome, by proteasome-dedicated chaperone Hsm3p. *J. Biol. Chem.* **287**, 12172-12182.
- 5 Sanada, T., Kim, M., Mimuro, H., Suzuki, M., Ogawa, M., Oyama, A., Ashida, H., Kobayashi, T., Koyama, T., Nagai, S., Shibata, Y., Gohda, J., Inoue, J., Mizushima, T. and Sasakawa, C. The *Shigella flexneri* effector OspI deamidates UBC13 to dampen the inflammatory response. *Nature* **483**, 623-626. (2012)
- 6 Xin L, Nakagawa S, Tsukihara T, Bai D, Aspartic Acid Residue D3 Critically Determines Cx50 Gap Junction Channel Transjunctional Voltage-Dependent Gating and Unitary Conductance. *Biophysical Journal*, **102**, 1022-1031. (2012)
- 7 Akita F, Higashiura A, Shimizu T, Pu Y, Suzuki M, Uehara-Ichiki T, Sasaya T, Kanamaru S, Arisaka F, Tsukihara T, Nakagawa A, Omura T, Crystallographic analysis reveals octamerization of viroplasm matrix protein P9-1 of Rice black streaked dwarf virus. *J Virol.*, **86**, 746-56. (2012)
- 8 Akita F, Miyazaki N, Hibino H, Shimizu T, Higashiura A, Uehara-Ichiki T, Sasaya T,

- Tsukihara T, Nakagawa A, Iwasaki K, Omura T, Viroplasm matrix protein Pns9 from rice gall dwarf virus forms an octameric cylindrical structure. *J Gen Virol.*, **92**, 2214-21. (2011)
- 9 Suga M, Yano N, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Maeda T, Yamashita E, Tsukihara T, Yoshikawa S, Distinguishing between Cl and O<sup>2-</sup> as the bridging element between Fe<sup>3+</sup> and Cu<sup>2+</sup> in resting-oxidized cytochrome c oxidase. *Acta Crystallographica Sect D Biological Crystallography*, **67**,742-744. (2011)
- 10 Nakagawa S, Gong XQ, Maeda S, Dong Y, Misumi Y, Tsukihara T, Bai D, Asparagine175 of connexin32 is a critical residue for docking and forming functional heterotypic gap junction channels with connexin26. *J Biol Chem.* **286**, 19672-19681. (2011)
- 11 Lee SJ, Jiko C, Yamashita E, Tsukihara T, Selective nuclear export mechanism of small RNAs. *Curr Opin Struct Biol.*, **21**, 101-108. (2011)
- 12 Maeda S, Tsukihara T, Structure of the gap junction channel and its implications for its biological functions. *Cell Mol Life Sci.*, **68**, 1115-1129. (2011)

## 科学研究費補助金等

- 1 文部科学省 (平成 19～23 年度) ターゲットタンパク研究プログラム  
 研究課題 巨大で複雑なタンパク分解装置の動態と作動機構  
 研究分担 水島恒裕 (究代表者 田中啓二)
- 2 文部科学省科学研究費補助金 (平成 23～24 年度) 新学術領域研究 公募 構造細胞生物学  
 研究課題 26S プロテアソーム複合体構造解析による超分子作動機構に関する研究  
 研究代表者 水島恒裕
- 3 科学研究費助成基金助成金 (平成 23～24 年度) 挑戦的萌芽研究  
 研究課題 真核細胞プロテアソームの試験管内再構成  
 研究代表者 水島恒裕
- 4 公益財団法人 内藤記念科学振興財団 第 43 回 (平成 23 年度) 内藤記念科学奨励金 (研究助成)  
 研究課題 プロテアソームにおける超分子複合体形成機構に関する構造生物学的研究  
 研究代表者 水島恒裕
- 3 文部科学省科学研究費補助金 (平成 21～25 年度) 基盤研究 (S) 課題番号: 21227003  
 研究課題 X 線結晶構造解析による細胞内及び細胞間での物質輸送の研究  
 研究代表者 月原富武