

I 細胞周期進行の制御機構の解明

Cell Cycle control mechanism

塩見泰史・八木澤 仁・西谷秀男
Shiomi, Y., Yagisawa, H., Nishitani, H.

細胞増殖において遺伝情報が維持されるためには、染色体は正確に一度だけ複製され、その後、正確に2つの娘細胞に分配されなければならない。これらの制御に異常がおこると、染色体分配や遺伝子数の異常が生じ、細胞死・発生異常あるいは細胞のがん化をもたらすと予想される。我々は、染色体の複製を“一回のみ”に制御する機構（ライセンス化制御）の解明に主眼をおき、ライセンス化因子 Cdt1 の機能解析を行っている。Cdt1 はS期開始後、PCNA との結合を介しユビキチン化されて速やかに分解されることを明らかにしてきた。今回、数多くの PCNA 結合タンパク質の中で、Cdt1 が特異的にユビキチン化されるのに必須なアミノ酸部位を特定した。また、UV による DNA 損傷後にも Cdt1 が分解されるが、このとき Cdt1 が損傷部位に PCNA 依存的に集積することを明らかにした。

II 機能脂質による細胞制御

Cell regulation by functional lipids

八木澤 仁・塩見泰史・西谷秀男
Yagisawa, H., Shiomi, Y., Nishitani, H.

イノシトールリン脂質は真核細胞の増殖・分化・運動に深く関与している。これらの細胞核における働きや、細胞骨格に対する役割に注目が集まっている。これらの主要調節因子であるホスホリパーゼ Cd1(PLCd1)のリン酸化が酵素活性を制御すること、細胞内 Ca^{2+} が上昇するような状況では PLCd1 の核収縮をとともなう核移行が見られることを示し、さらに PLCd1 の膜結合ドメインの構造は結合相手となる膜の曲率より変化することを明らかにした。また、PLCd1 の結合タンパク質であり、抗がん活性を持つことが報告された新規 RhoGAP である START-GAP1/DLC1 の機能発現には、tensin2 の PTB 領域を介する結合による細胞接着斑局在化が重要であることを示した。

発表論文 List of Publications

- I-1 塩見泰史・西谷秀男・釣本俊樹：CDK インヒビターp21 の分解による細胞周期の制御 生体の科学 60 527 - 532, (2009)
- I-2 塩見泰史・釣本敏樹：染色体複製における多重クランプ・ローダー系の役割 生化学 81 386 - 389 (2009)
- I-3 Yasushi Shiomi, Hideo Nishitani: STUDY OF IN VITRO UBIQUITINATION OF HUMAN CDT1 AND P21 BY CUL4-DDB1-CDT2 COMPLEX. CSH meeting on

EUKARYOTIC DNA REPLICATION AND GENOME MAINTENANCE CSHL
USA

- I-4 塩見泰史・石井健士・道下雅人・高見俊宏・大西奈保・西谷秀男：複製因子 PCNA に依存したユビキチン化システムによる染色体維持機能 第 31 回日本分子生物学会年会(横浜)(2009)
- I-5 塩見泰史・石井健士・中山潤一(理研)・西谷秀男：紫外線に応答したヒト Cul4-DDB1Cdt2 による細胞周期連携因子のユビキチン化と分解機構 第 31 回日本分子生物学会年会(横浜)(2009)
- I-6 石井健士・塩見泰史・大西奈保・西谷秀男：DNA 損傷部位への Cul4/DDB1/Cdt2 複合体の基質認識サブユニット Cdt2 の局在化 31 回日本分子生物学会年会(横浜)(2009)
- I-7 高見俊宏・塩見泰史・西谷秀男：細胞周期進行制御因子 Cdt2 の解析 第 20 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ(彦根)(2009)
- I-8 道下雅人・塩見泰史・西谷秀男：染色体複製制御因子 Cul4-DDB1-Cdt2 ユビキチンリガーゼによる基質認識機構の解析 第 20 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ(彦根)(2009)
- I-9 塩見泰史・西谷秀男：紫外線に応答したヒト Cul4-DDB1^{Cdt2} による Cdt1 のユビキチン化と分解機構 第 20 回 DNA 複製・組換え・修復ワークショップ(彦根)(2009)
- II-1 M. Fujii, K.S. Yi (POSTECH), M.J. Kim (POSTECH), S.H. Ha (POSTECH), S.H. Ryu (POSTECH), P-G. Suh (POSTECH), H. Yagisawa: Phosphorylation of phospholipase C- δ 1 regulates its enzymatic activity. *J. Cell. Biochem.* 108: 638-650 (2009)
- II-2 N. Uekama (分子研), T. Aoki, T. Maruoka, S. Kurisu, A. Hatakeyama, S. Yamaguchi, M. Okada, H. Yagisawa, K. Nishimura (分子研), S. Tuzi: Influence of membrane curvature on the structure of the membrane-associated pleckstrin homology domain of phospholipase C-d1. *Biochem. Biophys. Acta - Biomembranes* 1788 (12): 2575-2583 (2009)
- II-3 K. Kawai, S-Y. Kitamura, K. Maehira, J-I., Seike, H. Yagisawa: START-GAP1/DLC1 is localized in focal adhesion through interaction with the PTB domain of tensin2. *Adv. Enzyme Regul.* 50: 202-205 (2010)
- II-5 M. Okada, K. Taguchi, (神戸大), S. Maekawa (神戸大), K. Fukami, (東京薬科大), Yagisawa, H. : Calcium fluxes cause the nuclear shrinkage and translocation of phospholipase C-d1 into the nucleus. *Neurosci. Lett.* 472: 188-193 (2010)
- II-6 H. Yagisawa, K. Maehira, S-Y. Kitamura, T. Iino, M. Ikita, Y. Kawai, Y. Shikata, K. Kawai: Mechanisms of intracellular localization of START-GAP/DLC family proteins. 50th International Symposium on "Regulation of Enzyme Activity and Synthesis in Normal and Neoplastic Tissues, (Bologna, Italy) 2009
- II-7 上釜奈緒子(分子研)・川合克久・岡田雅司・八木澤 仁・辻 暁・西村勝之(分子研)：固体 NMR によるイノシトールリン脂質結合型タンパク質構造解析のための新規バイセル平面膜の開発 第 47 回日本生物物理学会年会(徳島)、2009
- II-8 N. Tokuda, H. Yagisawa, Y. Fukui(星薬科大), S. Tuzi: A solid state ¹³C NMR study of the SWAP-70 PH domain at the membrane surface. The 6th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists. (Sasebo, Nagasaki) 2009
- II-9 前平航司・北村真也・川合由華・生田桃子・四方佑斉・川合克久・西谷秀男・八木澤 仁：癌抑制遺伝子産物 START-GAP(DLC)と接着斑構成タンパク質テンシンの結合機構の解析

32 回日本分子生物学会年会 (横浜)、2009

- II-10 H. Yagisawa: START-GAP/DLCs: Antioncogenic products that act as RhoGAPs and activators of PLCd1. The 2nd Pohang Conference on Cellular Signaling (Pohang, Korea) 2010

大学院生命理学研究科

博士前期課程

- 岸 ちひろ:染色体複製ライセンス化因子 Cdt1 の M 期におけるリン酸化と安定性の解析
北村真也 : START-GAP1 と tensin2 の結合解析
高見俊宏 : Cul4-DDB1 に結合して Cdt1 の分解に関与する Cdt2 の解析
前平航司 : START-GAP1 の接着斑局在化機構の解析
道下雅人 : PCNA 結合因子の分解機構の解析
生田桃子 : START-GAP1 の接着斑における機能解析
四方佑斉 : START-GAP1 と新規結合タンパク質 vinculin との結合解析
尾滝朋彦 : ヒト細胞における S 期開始 CDK の基質検索

科学研究費補助金等

- 1 兵庫県立大学特別教育研究助成 (平成 21 年度:特別研究)
研究課題 抗がん遺伝子産物 START-GAP ファミリータンパク質の細胞内局在化機構の解明
研究分担者 八木澤 仁
- 2 文部科学省研究費補助金 (平成 17~21 年度) 特定領域研究 課題番号:17080013
研究課題 ほ乳動物細胞における複製開始複合体形成とその染色体安定性への関与の分子機構
研究分担者 西谷秀男
- 3 文部科学省研究費補助金 (平成 20~21 年度) 特定領域研究 課題番号:20012047
研究課題 UV 照射後に活性化される Cul4-DDB1-Cdt2 による Cdt1 分解機構の解析
研究代表者 西谷秀男
研究分担者 塩見泰史
- 4 文部科学省研究費補助金 (平成 20~21 年度) 特定領域研究 課題番号:20058030
研究課題 タンパク質分解による複製のライセンス化制御
研究代表者 西谷秀男
研究分担者 塩見泰史
- 5 日本学術振興会 (平成 21~23 年度) 基盤研究(B) 課題番号:21370081
研究課題 DNA 複製とカップルしたフィードバック制御による染色体維持機構の解明
研究代表者 西谷秀男 研究分担者 :塩見泰史
- 6 文部科学省研究費補助金 (平成 20~21 年度) 若手研究(B) 課題番号:20770140
研究課題 複製因子 PCNA が制御する、タンパク質ユビキチン化反応の分子機構の解析
研究代表者 塩見泰史
- 7 上原記念生命科学財団 (平成 21 年度) 研究奨励金
研究課題 細胞周期進行と紫外線照射に応答する細胞恒常性維持システムの解析
研究代表者 塩見泰史