

I 細胞周期進行の制御機構の解明

Cell Cycle control mechanism

塩見泰史・西谷秀男
Shiomi, Y., Nishitani, H.

細胞周期において、染色体は正確に一度だけ複製されたのち均等に分配されることにより遺伝情報が維持される。我々は、ライセンス化因子 Cdt1 の機能解析を通し、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）の解析を行っている。Cdt1 は S 期開始後、2 種のユビキチンリガーゼ CRL1-Skp2 と CRL4-Cdt2 によりユビキチン化されて速やかに分解され、染色体の再複製の抑制に関わっている。CRL4-Cdt2 による Cdt1 の分解は PCNA に依存しており、UV 損傷によっても誘導される。我々は、S 期と UV 照射後の分解において、異なった PCNA ローダー複合体が関与することを明らかにした。一方、次のサイクルの複製のため M 期において Cdt1 は安定化する。この過程において、M 期に機能するキナーゼ CDK-サイクリン B と Plk1 による Cdt1 のリン酸化が寄与する結果を得た。

II 機能脂質による細胞制御

Cell regulation by functional lipids

八木澤 仁
Yagisawa, H.

リン脂質、特にイノシトールリン脂質は動物細胞の増殖・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。また最近、細胞内のコレステロールの存在状態の変化によっても、種々の細胞機能が調節されていることが明らかになりつつある。それらの制御機構の研究は、膜を中心とした脂質-タンパク質相互作用による生体調節の理解に役立つばかりでなく、がんや免疫不全をはじめとする重篤な疾病や、循環器病に代表される老年病の原因の解明にも寄与すると考えられる。我々は、イノシトールリン脂質に結合するプレクストリンホモロジー (PH) ドメイン、コレステロールやセラミド等に結合する START ドメインなどの脂質結合ドメインを持つタンパク質の構造と機能にも注目して研究を行っている。

発表論文 List of Publications

- I-1 Roukos V(Univ Patras), Kinkhabwala A(Max Plank), Colombelli J(EMBL), Kotsantis P(Univ Patras), Taraviras S(Univ Patras), Nishitani H, Stelzer E(EMBL), Bastiaens P(EMBL), Lygerou Z(Univ Patras): Dynamic recruitment of licensing factor Cdt1 to sites of DNA damage. *J Cell Sci.* 124(Pt 3):422-434, 2011
- I-2 Stathopoulou A(Univ Patras), Roukos V(Univ Patras), Petropoulou C(Univ Patras), Kotsantis P(Univ Patras), Karantzelis N(Univ Patras), Nishitani H, Lygerou Z(Univ

- Patras), Taraviras S(Univ Patras). Cdt1 is differentially targeted for degradation by anticancer chemotherapeutic drugs. *PLoS One*. 2012;7(3):e34621
- I-3 Yasushi Shiomi, Akiyo Hayashi, Naohiro Suenaga, Miyuki Tanaka, Jun-ichi Nakayama (理研), Kaoru Sugasawa (神戸大), Hideo Nishitani: New function of PCNA loaders, RFC1-RFC and Ctf18-RFC, in genome stability through PCNA-CRL4Cdt2 mediated Cdt1 degradation. 34 回日本分子生物学会年会 (横浜)、2011
- I-4 村上祐輔・前田武志・岸 ちひろ・松本雅記 (九州大)・中山敬一 (九州大)・塩見泰史・西谷秀男: M 期キナーゼ Plk1 は Cdk1-CyclinB とともにライセンス化因子 Cdt1 をリン酸化して M 期に分解から守る. 34 回日本分子生物学会年会 (横浜)、2011
- I-5 石井健士・塩見泰史・西谷秀男: CRL4Cdt2 による Cdt1 のユビキチン化は Cdt2 の PCNA への結合を必要とする. 34 回日本分子生物学会年会 (横浜)、2011
- I-6 坂口洋貴・安谷賢識・林 晃世・塩見泰史・西谷秀男: DNA 損傷時におけるユビキチンリガーゼ CRL4Cdt2 の活性化制御機構. 34 回日本分子生物学会年会 (横浜)、2011
- I-7 石井健士・塩見泰史・西谷秀男: PCNA-CRL4Cdt2 によるライセンス化因子 Cdt1 のユビキチン化機構の解析. 第 21 回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性制御ワークショップ (福岡)、2011
- I-8 前田武志・村上祐輔・塩見泰史・西谷秀男: Plk1 による DNA 複製ライセンス化因子 Cdt1 の M 期安定化機構の解析. 第 21 回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性制御ワークショップ (福岡)、2011
- I-9 林 晃世・末永尚弘・塩見泰史・西谷秀男: DNA 複製時に機能する CRL4-Cdt2 によるユビキチン化反応の *in vitro* 再構成とその活性制御機構の解析. 第 21 回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性制御ワークショップ (福岡)、2011
- I-10 森野公之・塩見泰史・西谷秀男: M 期の DNA 損傷に応答した Cdt1 分解による新規の DNA 損傷チェックポイントの可能性. 第 21 回 DNA 複製・組換え・ゲノム安定性制御ワークショップ (福岡)、2011
- II-1 Okada, M.(山形大), Hozumi, Y.(山形大), Ichimura, T.(首都大東京), Hasegawa, H.(山形大), Yamamoto, M.(山形大), Takahashi, N., Iseki, K.(山形大), Yagisawa, H., Shinkawa, T.(首都大東京), Isobe T. (首都大東京), and Goto, K.(山形大): Interaction of nucleosome assembly proteins abolishes nuclear localization of DGK ζ by attenuating its association with importins. *Exp. Cell Res.* 317: 2853-2863, 2011
- II-2 Tokuda, N., Kawai, K., Lee, Y-H., Ikegami, T., Yamaguchi, S., Yagisawa, H., Fukui, Y. (台湾国立衛生院), and Tuzi, S.: Membrane-induced alteration of the secondary structure in the SWAP-70 pleckstrin homology domain. *J. Biochem.* 151: 391-401, 2012
- II-3 Okada, M.(山形大), Hozumi, Y.(山形大), Iwazaki, K.(山形大), Misaki K.(順天堂大), Yanagida, M.(順天堂大), Araki, Y.(順天堂大), Watanabe T.(山形大), Yagisawa, H., Tophame, M. K. (Univ Utah), Kaibuchi, K. (名古屋大), and Goto, K.(山形大): DGK ζ regulates LPS-activated phagocytosis through IQGAP1/Rac1 pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 420: 479-484, 2012
- II-4 Okada, M.(山形大), Hozumi, Y.(山形大), Tanaka, T.(山形大), Suzuki, Y.(山形大), Yanagida, M.(順天堂大), Araki, Y.(順天堂大), Evangelisti, C. (Univ Bologna), Yagisawa, H., Tophame, M. K. (Univ Utah), Martelli, A. M. (Univ Bologna), and Goto, K.(山形大): DGK ζ is degraded through the cytoplasmic ubiquitin-proteasome system under

- excitotoxic conditions, which causes neuronal apoptosis because of aberrant cell cycle reentry. *Cell. Signal.* 24:1573-1582, 2012
- II-5 八木澤 仁・四方佑斉・生田桃子：抗がん遺伝子産物 START-GAP1(DLC1)は接着斑構成因子 vinculin の C 末端領域を介して結合する. 第 84 回日本生化学会大会 (京都)、2011
- II-6 Yagisawa, H., and Okada, M.: Calcium fluxes cause nuclear shrinkage and the translocation of phospholipase C- δ_1 into the nucleus. 54 回日本神経化学会年会シンポジウム「イノシタイドシグナルの多様性」(石川)、2011
- II-7 Mimura, T. (神戸大), Mitsunashi, N. (神戸大), Matsuda, Y. (神戸大), Tanaka Y. (神戸大), Richardson, A. (CSIRO Plant Industry, Canberra, Australia), and Yagisawa, H.: Measurement of inositol polyphosphates by ion chromatography and their physiological status in higher plant. 54 回日本神経化学会年会シンポジウム「イノシタイドシグナルの多様性」(石川)、2011
- II-8 Tuzi, S., Tokuda, N., Kawai, K., Lee, Y-H., Ikegami, T., Fukui, Y. (台湾国立衛生院), and Yagisawa, H.: Changes in the secondary structure or the SWAP-70 PH domain induced at the lipid bilayer surface, The 10th JBS Biofrontier Symposium commemorating Kyushu University Centennial Anniversary International Symposium: New Aspects of Phospholipid Biology and Medicine 2011 (Fukuoka, Japan) 2011
- II-9 Ikita, M., Nishitani, H., and Yagisawa, H.: EGF regulates localization of START-GAP1 (DLC1), a novel antioncogene product, at focal adhesions. 第 34 回分子生物学会年会 (横浜) 2011
- II-10 Yagisawa, H., Maehira, K., Kitamura, S-Y., Kawai, Y., Ikita, M., Shikata, Y., and Kawai, K.: Interaction between *START-GAP/DLC*, a family of novel antioncogene products, and *tensin*, a component of a focal adhesion complex. 神戸大学先端融合科学シンポジウム (神戸) 2012
- II-11 Yagisawa, H.: START-GAP1 (DLC1), a novel antioncogene product, transiently delocalizes from focal adhesions under EGF stimulus. The 7th Korea-Japan Conference on Cellular Signalling for Young Scientists (Ulsan, Korea) 2012

大学院生命理学研究科

博士前期課程

- 植田麻紗子：Cdt2 のドメイン解析によるユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 の制御機構の解析
- 坂口洋貴：DNA 損傷時におけるユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 の活性化制御機構の解析
- 村上裕輔：DNA 複製のライセンス化因子 Cdt1 の M 期安定化機構の解析
- 安谷賢識：ユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 結合因子の解析
- 林 晃世：CRL4-Cdt2 の in vitro ユビキチン化反応系の構築
- 前田武志：ライセンス化因子 Cdt1 の M 期安定化におけるキナーゼ Plk1 の関わり
- 森野公之：DNA 損傷時における Cdt1 分解の生理学的意義の解明

科学研究費補助金等

- 1 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
- 2 文部科学省研究費補助金 (平成 22～23 年度) 特定領域研究 課題番号:22019033
研究課題 タンパク質分解系による複製のライセンス確立の制御機構
研究代表者 西谷秀男
研究分担者 塩見泰史
- 3 文部科学省研究費補助金 (平成 23 年度) 新学術領域研究 課題番号:23131512
研究課題 M 期 DNA 損傷の修復系と DNA 複製開始制御の連係機構の解析
研究代表者 西谷秀男
- 4 日本学術振興会 (平成 22～23 年度) 基盤研究(C) 課題番号:22501016
研究課題 抗がん遺伝子産物 START-GAP/DLC ファミリータンパク質の細胞内局在化機構
研究代表者 八木澤 仁
- 5 日本学術振興会 (平成 22～23 年度) 基盤研究(C) 課題番号:22570191
研究課題 生体膜上における PIP3 結合蛋白質ドメインの高次構造転移と情報伝達機能の制御
研究代表者 辻 暁
分担研究者 八木澤 仁
- 6 大阪大学微生物病研究所共同研究課題 (平成 22～23 年度:一般課題)
研究課題 Lats1 および Lats2 による PLC-delta1 のリン酸化部位の決定ならびにリン酸化による細胞周期制御の解析
研究代表者 八木澤 仁
- 7 文部科学省 新学術領域研究「がん支援」総括支援班 平成 23 年度国際交流海外派遣事業:
The 7th Korea-Japan Conference on Cellular Signalling for Young Scientists (Ulsan, Korea) 2012
派遣対象者 八木澤 仁
- 8 兵庫県立大学特別教育研究助成金 (平成 23 年度)
研究課題 ゲノム恒常性に多面的に機能する複合体、Ctf18-RFC による細胞の異常複製抑制機構
研究代表者 塩見泰史