

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、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 CRL4-Cdt2 ユビキチンリガーゼによりユビキチン化されて速やかに分解される。UV による DNA 損傷後にも S 期と同様に分解される。この CRL4-Cdt2 によるユビキチン化には PCNA 結合部位に加えて、その下流に塩基性アミノ酸が存在することが必須であるが、この領域に酸性アミノ酸が存在すると分解が抑制されることを見いだした。また、ヌクレオチド除去修復の過程で PCNA のクロマチン結合に依存して Cdt1 の分解が起こ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 C-delta1 (PLC-delta1) 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 PLC-delta1 の核収縮をとともう核移行が見られることを示した。また、イノシトールリン脂質に結合する SWAP-70 の PH ドメインの構造が、膜結合にともない変化することを明らかにした。さらに、PLC-delta1 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ている新規 RhoGAP である START-GAP1/DLC1 の結合タンパク質として新たに vinculin を同定し、その細胞接着斑局在化機構を解析した。

発表論文 List of Publications

- I-1 Ishii T, Shiomi Y, Takami T, Murakami Y, Ohnishi N, Nishitani H: Proliferating cell nuclear antigen-dependent rapid recruitment of Cdt1 and CRL4Cdt2 at DNA-damaged sites after UV irradiation in HeLa cells. *J Biol Chem* ; 285(53) : 41993-42000, 2010
- I-2 Michishita M, Morimoto A, Ishii T, Komori H, Shiomi Y, Higuchi Y, Nishitani H: Positively charged residues located downstream of PIP box, together with TD amino acids within PIP box, are important for CRL4(Cdt2) -mediated proteolysis. *Genes Cells*. 16(1): 12-22, 2011
- I-3 塩見泰史・西良太郎（神戸大）・菅澤 薫（神戸大）・中山潤一（理研）・西谷秀男：複製と損傷に応答して機能するユビキチンリガーゼ CRL4-Cdt2 の制御機構、 33 回日本分子生物学会年会（神戸）、2010

- I-4 村上裕輔・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 : Cdt1 の M 期安定化分子機構の解析、第 33 回日本分子生物学会年会 (神戸)、2010
- I-5 石井健士・塩見泰史・西谷秀男 : ライセンス化因子 Cdt1 は PCNA 依存的に DNA 損傷部位に集積し分解される、第 33 回日本分子生物学会年会 (神戸)、2010
- I-6 坂口洋貴・安谷賢識・高見俊宏・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、第 33 回日本分子生物学会年会 (神戸)、2010
- I-7 Ishii T, Shiomi Y, Murakami Y, Nishitani H: Cdt1 and CRL4/Cdt2 were recruited rapidly to UV-induced DNA damage site dependent on PCNA-binding. The 7th 3R (Replication, Recombination and Repair) Symposium (Toyama), 2010
- II-1 K. Maehira, S-Y. Kitamura, M. Ikita, K. Kawai, H. Nishitani, H. Yagisawa: Interaction with tensin2 PTB domain regulates targeting of START-GAP1/DLC1 to punctated autophagosome-like structures. 第 62 回日本細胞生物学会大会 (大阪) 2010
- II-2 H. Yagisawa, G.R. Banik, M. Yamaga: Characterization of the START domain of p122RhoGAP/DLC1. The 27th Naito Conference of Membrane Dynamics and Lipid Biology [I], (Sapporo, Japan) 2010
- II-3 徳田尚美・川合克久・八木澤 仁・福井泰久 (台湾国立衛生院)・辻 暁 : 固体 NMR による脂質膜表面において誘起される SWAP-70 PH ドメインの構造変化および機能の解析 第 49 回 NMR 討論会 (東京) 2010
- II-4 S. Tuzi, N. Tokuda, K. Kawai, Y. Fukui (台湾国立衛生院), H. Yagisawa: Conformational alterations of the pleckstrin homology domains at the lipid bilayer surface. Advances in Solid-State NMR of Biological Molecules. Pacificchem 2010, (Hawaii, USA) 2010
- II-5 生田桃子・四方佑斉・松尾宏昭・前平航司・北村真也・西谷秀男・八木澤 仁 : がん抑制遺伝子産物 START-GAP1(DLC1)は接着斑構成分子 vinculin と結合する 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会・合同大会 (神戸) 2010
- II-6 H. Yagisawa, M. Okada, Y. Naito: Nuclear-cytoplasmic shuttling of PLC-delta1 and its implication in cell proliferation, 第 83 回日本生化学会大会・第 33 回日本分子生物学会年会・合同大会 (神戸) 2010
- II-7 H. Yagisawa: Mechanisms of nucleocytoplasmic transport of phospholipase C-delta1 and its role in cellular function. Gordon Research Conference on "Signal Transduction Within The Nucleus" (Ventura, USA) 2011

大学院生命理学研究科

博士前期課程

- 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 : S 期開始に関わる新規 CDK 基質の探索
- 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

科学研究費補助金等

- 1 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

- 2 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
- 3 山陽特殊製鋼文化振興財団（平成 22 年度：文化振興助成事業）
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
研究代表者 八木澤 仁
- 4 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
- 5 日本学術振興会（平成 22～23 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 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
- 7 内藤記念科学奨励金（平成 22 年度）
研究課題 複製開始に連動したタンパク質分解系の解析
研究代表者 西谷秀男
- 8 ひょうご科学技術協会 一般学術研究助成金（平成 22 年度）
研究課題 DNA 複製と連動したタンパク質分解系による遺伝情報維持機構の解析
研究代表者 西谷秀男