

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、染色体が正確に一度だけ複製されたのち均等に分配されるので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）の解析を行ってきた。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を受け速やかに分解される。これは、染色体の再複製の抑制に深く関わっている。CRL4-Cdt2 による Cdt1 の分解はクロマチンに結合した PCNA に依存しており、UV 損傷によっても誘導される。我々は、M 期に UV による DNA 損傷を受けた細胞では Cdt1 分解に抵抗性があるが、この細胞が G1 期に進行すると速やかに分解され、その結果、複製のライセンス化が抑制されることを見いだした。このような細胞では G1 期停止が増強され、生存率の上昇につながることを報告した。また、精製タンパク質を用いて、クロマチンに結合した PCNA 上での Cdt1 および CRL4-Cdt2 の集積の解析を始めた。さらに、CRL4-Cdt2 の機能制御のみならず、染色体複製における多様な過程に関わる PCNA のクロマチンへの装着・または脱着の過程 RFC 複合体 (RFC1-RFC および Elg1-RFC) を精製して解析を進めている。

発表論文 List of Publications

- 1 Yasushi Shiomi, Naohiro Suenaga, Miyuki Tanaka, Akiyo Hayashi, and Hideo Nishitani: Imaging analysis of cell cycle-dependent degradation of Cdt1 in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:357-65. doi: 10.1007/978-1-4939-0888-2_18
- 2 Akiyo Hayashi, Naohiro Suenaga, Yasushi Shiomi and Hideo Nishitani. PCNA-dependent ubiquitination of Cdt1 and p21 in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:367-82. doi: 10.1007/978-1-4939-0888-2_19
- 3 Hideo Nishitani, Masayuki Morino, Yusuke Murakami, Takeshi Maeda, Yasushi Shiomi: Chromatin fractionation analysis of licensing factors in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:517-27. doi: 10.1007/978-1-4939-0888-2_28
- 4 Mayayuki Morino, Miyuki Tanaka, Yasuhi Shiomi, Hideo Nishitani. Imaging analysis to determine chromatin binding of licensing factors MCM2-7 in mammalian cells. *Methods Mol Biol.* 2014;1170:529-37. doi: 10.1007/978-1-4939-0888-2_29
- 5 Domingues SC, Konietzko U, Henriques AG, Rebelo S, Fardilha M, Nishitani H, Nitsch RM, da Cruz E Silva EF, da Cruz E Silva OA. RanBP9 Modulates AICD Localization and Transcriptional Activity via Direct Interaction with Tip60. *J Alzheimers Dis.* 2014 Jan 1;42(4):1415-33. doi: 10.3233/JAD-132495
- 6 Morino M, Nukina K, Sakaguchi H, Maeda T, Takahara M, Shiomi Y, Nishitani H. Mitotic UV Irradiation Induces a DNA Replication-Licensing Defect that Potentiates G1 Arrest Response. *PLoS One.* 2015 Mar 23;10(3):e0120553. doi: 10.1371/journal.pone.0120553. eCollection 2015
- 7 塩見泰史・西谷秀男：PCNAアンローダー、Elg1-RFCの機能解析 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月25日- 27日 パシフィコ横浜（神奈川県）
- 8 林晃世・塩見泰史・高橋達郎（阪大）・末永尚弘・西谷秀男：S期クロマチン特異的なタンパク質分解系CRL4-Cdt2の制御機構 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月25日- 27日 パシフィコ横浜（神奈川県）

- 9 神谷侑輝（関西学院大院）・西谷秀男・大谷清（関西学院大院）：転写因子E2F1のN末端領域に対する新規相互作用因子の探索と解析 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月25日- 27日 パシフィコ横浜（神奈川県）
- 10 田中美如・高原教代・塩見泰史・西谷秀男：紫外線DNA損傷時におけるCdt1分解の解析 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月25日- 27日 パシフィコ横浜（神奈川県）
- 11 中村知史（神戸大）・村上浩一（神戸大）・上原芳彦（神戸大）・小野哲也（東北大）・浦野健（島根大）・西谷秀男・菅澤薫（神戸大）：DNA修復とエピゲノム制御に関わるチミンDNAグリコシラーゼの機能制御 第37回日本分子生物学会年会 2014年11月25日- 27日 パシフィコ横浜（神奈川県）
- 12 Naohiro Suenaga, Takashi Ishii, Akiyo Hayashi, Yasushi Shiomi, Hideo Nishitani. Mechanism of replication-coupled destruction of DNA replication licensing factor, Cdt1 by a CRL4-Cdt2 ubiquitin ligase 2nd International Picobiology Institute Symposium“Development and Destruction” 9-10, October, 2014, Center for Advanced Science & Technology (Hyogo) Japan
- 13 Kohei Nukina, Yasushi Shiomi, Hideo Nishitani. Functional analysis of substrate recognition subunit Cdt2 of ubiquitin ligase CRL4Cdt2 Grad. Sch. of Life Sci., Univ. of Hyogo 2nd International Picobiology Institute Symposium“Development and Destruction” 9-10, October, 2014, Center for Advanced Science & Technology (Hyogo) Japan
- 14 Akiyo Hayashi¹, Yasushi Shiomi¹, Tatsuro S (Osaka Univ.), Takahashi², Naohiro Suenaga¹, Hideo Nishitani¹ Reconstitution of ubiquitination by CRL4-Cdt2, an S-phase specific proteolysis system on the chromatin. 2nd International Picobiology Institute Symposium“Development and Destruction” 9-10, October, 2014, Center for Advanced Science & Technology (Hyogo) Japan

大学院生命理学研究科

博士後期課程

林 晃世 : CRL4-Cdt2 の in vitro ユビキチン化反応系の構築

博士課程（5年一貫）

貫名康平 : Functional analysis of substrate recognition subunit Cdt2 of ubiquitin ligase CRL4-Cdt2

Muadz mazian : Mechanism and cell cycle control of Cdt1 proteolysis by ubiquitin ligase CRL4Cdt2

科学研究費補助金等

- 1 文部科学省研究費補助金（平成 26 年度） 新学術領域研究 課題番号：25131718
研究課題 修復と複製時に機能する CUL4-DDB1-Cdt2 によるゲノム維持機構
研究代表者 西谷秀男
- 2 文部科学省研究費補助金（平成 26 年度） 基盤研究（B） 課題番号：26291025
研究課題 PCNA サイクルと連動したタンパク質分解による複製制御
研究代表者 西谷秀男 分担者 塩見泰史
- 3 文部科学省研究費補助金（平成 26 年度） 挑戦的萌芽研究 課題番号：26650064
研究課題 PCNA サイクルと連動したタンパク質分解による複製制御
研究代表者 西谷秀男
- 4 文部科学省研究費補助金（平成 25 年度） 基盤研究（C） 課題番号：25430171
研究課題 新規な PCNA アンロード機構による細胞周期制御とゲノム維持
研究代表者 塩見泰史