

要 約

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	増 田 健 太
主 論 文 題 名 LATS1 and LATS2 Phosphorylate CDC26 to Modulate Assembly of the Tetratricopeptide Repeat Subcomplex of APC/C (LATS1, LATS2はCDC26をリン酸化し, APC/Cを構成するTPRモチーフを有するタンパク質の会合を調整する)				
(内容の要旨) <p>LATS1 (Large tumor suppressor) は癌抑制遺伝子として同定されたセリン・スレオニンキナーゼである。LATS1は、分裂酵母におけるDbf2キナーゼと相同性をもつ。Dbf2はDbf2-Cdc14伝達系によりユビキチンリガーゼであるAPC/Cを介して、分裂期脱出 (Mitotic Exit Network: MEN) を制御することが知られている。一方でLATS1はHippo pathwayを構成し腫瘍を抑制していることや、細胞周期M期で活性化することが報告されているが、特に細胞周期分裂期における詳細な制御機構については解明されていない。</p> <p>そこで本研究では、LATS1による細胞周期における新たな機能を解明するため、網羅的なリン酸化プロテオーム解析を行った。LATS1によりリン酸化されるAPC/Cの構成タンパク質を探索したところ、APC/Cのcomponentの一つであるCDC26を同定した。さらにリン酸化部位を同定するために、CDC26のセリン/スレオニンに変異を導入したCDC26変異タンパク質を作成し解析を行った結果、LATS1はCDC26の 7番目のスレオニン(T7)をリン酸化することが明らかとなった。続いてCDC26 T7に対するリン酸化抗体を作成し、細胞内でのリン酸化を解析したところ、ノコダゾール処理下の分裂期でCDC26 T7のリン酸化が増強し、LATS1およびLATS2のノックダウンにより減少することから、細胞内においてLATS1/2がCDC26のリン酸化に関与していることが明らかになった。CDC26はAPC/C内においてTPR (tetratricopeptide repeat) モチーフを有するAPC6と直接結合しているが、T7をアスパラギン酸(D)に変異したタンパク質 (CDC26 T7D) ではAPC6との結合が低下した。分子動力的シミュレーション解析においても、T7のリン酸化によってCDC26とAPC6との結合が変化した。さらにHela細胞において、内在性のCDC26をCDC26 T7Dに置換し、ゲル濾過クロマトグラフィーにより解析を行うと、APC/Cの溶出される分子量が増加した。つまりCDC26 T7のリン酸化によってAPC/Cの会合が変化した。さらにCDC26 T7Dに置換された細胞においては、APC/Cの基質として知られるPik1のユビキチン化が促進された。</p> <p>本研究により、APC/Cをリン酸化するキナーゼとしてLATS1/2が同定され、LATS1/2が直接APC/Cに作用するメカニズムが存在することが初めて明らかになった。</p>				