

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	細胞分裂軸の新たな制御機構の解析と皮膚の形成・恒常性維持における役割
研究機関・ 部局・職名	京都大学・ウイルス研究所・教授
氏名	豊島文子

### 1. 当該年度の研究目的

本研究は、申請者が同定した新規の細胞分裂軸制御因子である c-Abl, PCK1, AK2 の分子機序と皮膚の組織構築における役割の解明を目指すものである。本年度の目的は以下の3項目である。

- 1) 分裂軸制御機構における c-Abl の機能とマウス皮膚の分裂軸制御への関与の解明。
- 2) 分裂軸制御における PCK1 のシグナル伝達機構の解析。
- 3) 分裂軸制御における AK2 の機能の解析、およびノックアウトマウスの作製。

### 2. 研究の実施状況

#### 1) c-Abl の機能解析

HeLa 細胞では、分裂軸が細胞—細胞外基質接着面に対して平行になる。しかし c-Abl を抑制すると分裂軸が異常になり細胞外基質接着面に対して傾く頻度が顕著に増加した。進化的に保存された分裂軸制御因子である LGN の細胞内局在を解析したところ、通常細胞表層上に三日月状に偏って局在する LGN が、c-Abl ノックダウン細胞では細胞表層全体に過剰に広がって局在し、その結果 LGN 依存的に紡錘体を回転させる力が生じることが分かった。さらに、この回転運動には LGN 結合因子である Dig が必要であることを見出した。次に LGN のもう一つの結合因子である NuMA が c-Abl の基質であることを見出した。c-Abl は NuMA の Tyr1774 を直接リン酸化すること、このリン酸化は NuMA の細胞表層へのアンカリングを保證することで、紡錘体軸を細胞表層上の LGN の極性軸に沿って配置させることを示した。さらに、c-Abl/LGN/NuMA/紡錘体軸の分子機構は、皮膚基底細胞でも機能することを c-Abl のノックアウトマウスを用いて証明した。以上の結果を *Nature communications* に発表した。

#### 2) PCK1 の機能解析

HeLa 細胞において PCK1 を siRNA でノックダウンすると分裂軸が異常になった。この異常は siRNA 耐性の野生型 PCK1 によりレスキューされるが、キナーゼ不能型 PCK1 ではレスキューされないことから、PCK1 のキナーゼ活性が必要であることが分かった。PCK1 の基質を同定するため、コントロールの細胞と PCK1 ノックダウン細胞の細胞抽出液中でリン酸化状態に変化が見られるタンパク質を、リン酸化プロテオーム解析で同定した。リン酸化プロテオーム解析は、京都大学薬学研究科の石濱泰教授との共同

様式19 別紙1

研究で行った。PCTK1 のリン酸化コンセンサス配列による絞込みを行ったところ、15遺伝子が候補として同定された。現在、個々の遺伝子を siRNA でノックダウンし、分裂軸制御に必要な遺伝子の特定を試みている。

3) AK2 の機能解析

AK2 は 2ADP⇌ATP+AMP 反応を触媒するミトコンドリアタンパク質であり、ミトコンドリア内膜でおこる電子伝達系に重要な役割を果たしている。電子伝達系の阻害剤を用いた解析から、分裂軸制御には AK2 以外にも電子伝達系を担う複数のタンパク質が関与することが分かった。また、AK2 の in vivo での役割を解析するため、AK2 コンディショナルノックアウトマウスの作製を行った。現在、ES 細胞の作製が完了し、キメラマウスの作出を行っている。cKO マウスの作出は理化学研究所(CDB)との共同研究で行っている。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 2 件	(掲載済み一査読有り) 計 1 件 ABL1 regulates spindle orientation in adherent cells and mammalian skin. Matsumura S., Hamasaki M., Yamamoto T., Ebisuya M., Sato M., Nishida E. and Toyoshima F. <i>Nature Communications</i> : doi:10.1038/ncomms1634, 2012.  (掲載済み一査読無し) 計 1 件 豊島文子 「哺乳類における細胞分裂軸の制御機構」 生化学 Vol.84, No2, pp.81-91, 2012  (未掲載) 計 0 件
会議発表 計 12 件	専門家向け 計 12 件 Shigeru Matsumura, Mayumi Hamasaki, Takuya Yamamoto, Miki Ebisuya, Mizuho Sato, Eisuke Nishida, Fumiko Toyoshima: ABL1 regulates spindle orientation in adherent cells and mammalian skin. Exciting Biologies Cellular development, "Biology at the interface", Sep. 29 - Oct. 1, 2011, Kobe, Japan Sayaka Iwano, Shigeru Matsumura and Fumiko Toyoshima: Analysis of a novel spindle orientation regulator. Exciting Biology Series "Cellular Development: Biology at the Interface", Sep.29-Oct.1, 2011, Kobe, Japan Mayumi Hamasaki, Shigeru Matsumura, and Fumiko Toyoshima: Cholesterol metabolites pregnenolone is required for centriole engagement. EMBO Conference "Centrosomes and Spindle Pole Bodies", October 2-6, 2011, Barcelona, Spain Shigeru Matsumura, Mayumi Hamasaki, Takuya Yamamoto, Miki Ebisuya, Mizuno Sato, Eisuke Nishida, and Fumiko Toyoshima: Genome-wide survey of kinases identified ABL1 as a novel regulator of spindle orientation in adherent cells and mammalian skin. EMBO Conference "Centrosomes and Spindle Pole Bodies", October 2-6, 2011, Barcelona, Spain Shigeru Matsumura, Mayumi Hamasaki, Takuya Yamamoto, Miki Ebisuya, Mizuho Sato, Eisuke Nishida, Fumiko Toyoshima: ABL1 regulates spindle orientation in

様式19 別紙1

	<p>adherent cells and mammalian skin. Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, "Stem Cell Biology", Sep. 20-24, 2011, New York, USA</p> <p>松村繁、豊島文子:細胞分裂期における紡錘体の位置決めを制御するメカニズムの解析、定量生物学の会 第四回年会、名古屋、2012年1月7-9日</p> <p>濱崎真弓、松村繁、豊島文子:コレステロール側鎖切断酵素 CYP11A1 は中心小体のエンゲージメントを制御する. 第84回 日本生化学会大会、京都、2011年9月22日</p> <p>松村繁、濱崎真弓、山本拓也、戎家美紀、佐藤みずほ、西田栄介、豊島文子:ABL1による細胞分裂軸方向の制御機構. 第63回 日本細胞生物学会大会、札幌、2011年6月27-29日</p> <p>濱崎真弓、松村繁、豊島文子:コレステロール代謝産物プレグネノロンは中心体機能を制御する. 第63回 日本細胞生物学会大会、札幌、2011年6月27-29日</p> <p>井川敬介、福田光則、豊島文子:Polo-like kinase による初期エンドソーム制御機構.第63回 日本細胞生物学会大会、札幌、2011年6月27日</p> <p>岩野さやか、松村繁、豊島文子:A Cdk family protein regulates spindle orientation. 第63回 日本細胞生物学会大会、札幌、2011年6月27-29日</p> <p>渡邊美子、豊島文子:細胞分裂軸制御機構における、コレステロールの働き.第63回 日本細胞生物学会大会、札幌、2011年6月27-29日</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書</p> <p>計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p><a href="http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab.toyoshima.html">http://www.virus.kyoto-u.ac.jp/Lab.toyoshima.html</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1、女子校生車座フォーラム、平成23年11月6日、京都大学、女子高生と保護者、約120名、女子高生に研究内容や研究者になるまでの体験談などを語った。</p> <p>2、京都大学11月祭研究室企画、平成23年11月23日、京都大学、一般、約100名、大学祭で一般人対象に研究内容をポスターで紹介した。</p> <p>3、GLHS に対する京大スーパーレッスン、平成23年11月3日、京都大学、大阪 GLHS 校の高校生と教員、約500人、高校生対象に生命科学研究の最先端技術について紹介した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計4件</p>	<p>皮膚の健康維持に必要な細胞分裂軸方向を制御する遺伝子の発見; 京都新聞(1月18日25面)、日刊工業新聞(1月19日25面)、毎日新聞(1月18日4面)、科学新聞(2月3日4面)に掲載。</p>

様式19 別紙1

その他	
-----	--

4. その他特記事項

平成23年度文部科学大臣表彰若手科学者賞

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	114,000,000	56,320,000	0	57,680,000	0
間接経費	34,200,000	16,896,000	0	17,304,000	0
合計	148,200,000	73,216,000	0	74,984,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	55,320,000	0	0	55,320,000	45,577,031	9,742,969	0
間接経費	16,746,000	0	0	16,746,000	3,852,367	12,893,633	0
合計	72,066,000	0	0	72,066,000	49,429,398	22,636,602	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	39,719,191	実験試薬、組織切片作製装置、フリーザー等
旅費	972,710	研究成果発表旅費(細胞生物学会、EMBO会議)
謝金・人件費等	2,721,063	技術補佐員雇用費等
その他	2,164,067	学会誌投稿料、別刷り代金等
直接経費計	45,577,031	
間接経費計	3,852,367	
合計	49,429,398	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
微量高速冷却遠心機	トミー工業株式会社製 微量高 速冷却遠心機 MX-305	1	767,550	767,550	2011/6/15	京都大学
ファイバー蛍光装置 蛍光フィル ターキューブ	株式会社ニコン製 TS100用 ファイバー蛍光装置 蛍光フィル ターキューブGFP-B 一式	1	847,350	847,350	2011/6/30	京都大学
液体室素凍結保存容器	米国テイラーワートン社製 液体 室素凍結保存容器 LS4800	1	699,300	699,300	2011/6/30	京都大学
ユニバーサルCO2インキュベ ーター	米国サーモフィッシャーサイエン ティフィック社製 フォーマ ユニ バーサルCO2インキュベーター 3110 CO2(T/Cセンサー)	1	1,187,025	1,187,025	2011/7/11	京都大学
超低温フリーザー	三洋電機株式会社製 超低温フ リーザー MDF-U500VX 一式	1	2,178,960	2,178,960	2011/7/22	京都大学
電動ステージ	米国モレキュラーデバイス社製 電動ステージMD-WELL961 00T-META 一式	1	2,362,500	2,362,500	2011/8/9	京都大学
ルーチン病理組織学用凍結ミク ロトーム	独逸 ライカマイクロシステムズ 社製 ルーチン病理組織学用凍 結ミクロトームCM1850 一式	1	3,776,934	3,776,934	2011/8/22	京都大学

薬用冷蔵ショーケース	福島工業(株)製 薬用冷蔵 ショーケース FMS-701G	1	655,987	655,987	2011/9/14	京都大学
Gene Pulser Xcell コンブリート システム	米国 バイオ・ラッドラボラトリーズ 社製 Gene Pulser Xcell コンブリートシステム	1	1,293,600	1,293,600	2011/9/15	京都大学
バイオ・シェーカー	タイテック株式会社 バイオ・ シェーカー BR-43FL・MR	1	926,100	926,100	2011/10/14	京都大学
極微量分光光度計	米国サーモフィッシャーサイエン ティフィック社製 極微量分光光 度計 NanoDrop2000c	1	1,804,950	1,804,950	2012/2/24	京都大学