

附属発生工学実験施設

Laboratory of Embryonic and Genetic Engineering

発生工学実験施設では、サービス業務として発生工学的技術供与（トランスジェニックマウスやノックアウトマウス作製）、マウス胚保存業務、マウス飼育維持の管理業務等を行っている。今年度は12種類のノックアウトマウスを作製への技術供与を行い、現在各部門で解析が行われている。また、マウス胚保存業務により各部門のマウス飼育数の軽減の一助となった。研究分野では発生工学的技術を利用し、特に蛋白質の特異的分解機構に関わる一連の分子群を全て破壊するプロジェクトを現在進行中である。

人事異動は以下のとおりである。

1998年4月から細胞学部門の中山敬一教授が施設長となった。9月1日より英国王立癌研究基金研究所より小南欽一郎を助手として招き、数年間続いた空席が無くなりより充実したサービス・研究が遂行できる体制となった。また研究補助員として長澤郁子、岩田光子の2名が前年度より引き続き業務に当たっている。

A. 蛋白質の特異的分解に関わる分子群の発生工学的解析

a. ユビキチンリガーゼ（E3）複合体を構成する分子群の遺伝子欠損マウスの作製と解析

多くの蛋白質は分解速度によってその発現量が規定されている。特に速いレスポンスを必要とする細胞周期調節因子やシグナル伝達系の分子の多くはユビキチン・プロテアソーム系で分解されることが知られている。この分解の引き金となるユビキチン化は基質・時間特異的に起きるが、その特異性を与える分子機構は、この数年間で急速に解明され、この特異性はユビキチンリガーゼ（E3）という酵素によって担われていると考えられるようになった。私達は細胞学部門との共同研究で、生化学的・分子生物学的に同定されたユビキチンリガーゼ（E3）候補分子である Skp1, Cul1, Skp2 を ES 細胞にて遺伝子破壊を行い、ノックアウトマウスを作製した。Skp1, Cul1 ノックアウトマウスはいずれも胎生早期で死亡し、Skp1, Cul1 が発生において重要な機能を持つことが示された。Skp2 ノックアウトマウスは、生後3ヶ月までは、矮小である他異常を認めていない。さらに詳細な生化学的・細胞学的解析を行う予定である。

b. ユビキチンリガーゼ（E3）複合体を構成する分子群のトランスジェニックマウスの作製と解析

上記ユビキチンリガーゼ（E3）候補分子のトランスジェニックマウスを作製して T 細胞に特異的・強制的にこれらの分子を発現させ、その生理機能の変化を探索するプロジェクトを現在進行中である。

原著論文

1. Tanaka, T., Tatsuno, I., Noguchi, Y., Uchida, D., Oeda, T., Narumiya, S., Yasuda, T., Higashi, H., Kitagawa, M., Nakayama, K.-i., Saito, Y., Hirai, A. 1998.
Activation of cyclin-dependent kinase 2 (Cdk2) in growth-stimulated rat astrocytes. Geranylgeranylated Rho small GTPase(s) are essential for the induction of cyclin E gene expression.
J. Biol. Chem. 273, 26772-26778.
2. Hatakeyama, S., Hamasaki, A., Negishi, I., Loh, D.Y., Sendo, F., Nakayama, K., Nakayama, K.-i. 1998.
Multiple Gene Duplication and Expression Of Mouse Bcl-2-Related Genes, A1.
Int. Immunol. 10, 631-637.
3. Kominami, K., Sethsmith, H., Toda, T. 1998.
Apc10 and Ste9/Srw1, Two Regulators Of the Apc-Cyclosome, As Well As the Cdk Inhibitor Rum1 Are Required For G(1) Cell-Cycle Arrest In Fission Yeast.
EMBO J. 17, 5388-5399.
4. Nagata, M., Nakayama, K.-i., Terada, Y., Hoshi, S., Watanabe, T. 1998.
Cell cycle regulation and differentiation in the human podocyte lineage.
Am. J. Pathol. 153, 1511-1520.
5. Kominami, K., Ochotorena, I., Toda, T. 1998.
Two F-box/WD-repeat proteins Pop1 and Pop2 form hetero- and homo-complexes together with cullin-1 in the fission yeast SCF(Skp1-Cullin-1-F-box) ubiquitin ligase.
Genes Cells 3, 721-735.
6. Hamasaki, A., Sendo, F., Nakayama, K., Ishida, N., Negishi, I., Nakayama, K.-i., Hatakeyama, S. 1998.
Accelerated neutrophil apoptosis in mice lacking A1-a, a subtype of the bcl-2-related A1 gene.
J. Exp. Med. 188, 1985-1992.
7. Hatakeyama, S., Kitagawa, M., Nakayama, K., Shirane, M., Matsumoto, M., Hattori, K., Higashi, H., Nakano, H., Okumura, K., Onoe, K., Good, R.A. 1999.
Ubiquitin-dependent degradation of I kappa B alpha is mediated by a ubiquitin ligase Skp1/Cul 1/F-box protein FWD1.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 3859-3863.

総 説

1. Nakayama, K.-i., Nakayama, K. 1998.
Cip/Kip cyclin-dependent kinase inhibitors: brakes of the cell cycle engine during development.
Bioessays 20, 1020-1029.
2. 小南欽一郎. (1999).
細胞周期制御における新ユビキチンリガーゼ-SCF 複合体の役割.
実験医学 (増刊)「細胞周期研究の新しい展開」17, 636-643.

学会発表

1. 中山敬一 (1998, 7/16).
ノックアウトマウスの医学生物学への貢献.
第18回日本臨床化学会夏期セミナー, 福岡.
2. 中山敬一, 永濱裕康, 石田典子, 白根道子, 森 正樹, 高橋勝彦, 畠山鎮次, 北川雅敏, 中山啓子 (1998, 9/30).
細胞周期のブレーキ p27及び p57の分化と発癌に関する役割.
第57回日本癌学会総会 (シンポジウム), 横浜.
3. 渡邊裕美, 北川雅敏, 中山敬一, 渡邊 武, 本山 昇 (1998, 10/16).
神経分化時における Rb 蛋白のリン酸化と細胞周期制御機構の解析.
第21回日本生化学会年会 (ワークショップ), 名古屋.
4. Nakayama, K.-i. (1998, 11/15).
Roles of p27 and p57 CDK inhibitors in development and oncosuppression.
The 1998 Japanese-German Workshop, Kumamoto, JAPAN.
5. 服部公彦, 畠山鎮次, 中山啓子, 北川雅敏, 中山敬一 (1998, 12/17).
マウス Skp1と F-box protein, FWD1の結合特性の解析.
第21回日本分子生物学会年会, 横浜.
6. 三浦正徳, 畠山鎮次, 中山啓子, 北川雅敏, 中山敬一 (1998, 12/17).
新規 F-Box 蛋白, FWD2の genomic DNA クローニングとその解析.
第21回日本分子生物学会年会, 横浜.
7. 南嶋洋司, 畠山鎮次, 豊野 孝, 北川雅敏, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/17).
マウス Skp1 cDNA 及び genomic DNA のクローニング.
第21回日本分子生物学会年会, 横浜.
8. 白根道子, 春宮裕見子, 石田典子, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一, 北川雅敏 (1998, 12/17).

p27Kip1の発現レベルを調節する2種類の分解機構.

第21回日本分子生物学会年会, 横浜.

9. 北川雅敏, 畠山鎮次, 白根道子, 石田典子, 平井愛山, 田中知明, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/18).

細胞増殖関連蛋白質の分解機構- p27Kip1を中心として.

第21回日本分子生物学会年会 (ワークショップ), 横浜.

10. 畠山鎮次, 北川雅敏, 白根道子, 松本雅記, 服部公彦, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/18).
新規マウス F-Box 蛋白の cDNA クローニング及び細胞生物学的解析.

第21回日本分子生物学会年会 (ワークショップ), 横浜.

11. 北川雅敏, 人見奏恵, 東秀明, 古川雄祐, 平井愛山, 中山敬一, 田矢洋一 (1998, 9/30).
サイクリン依存性キナーゼによる RB 蛋白質の部位特異的リン酸化と細胞分化における意義.

第57回日本癌学会総会, 横浜.

12. 松本雅記, 畠山鎮次, 北川恭子, 北川雅敏, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/18).

マウス Skp2の cDNA および genomic DNA のクローニングとその解析.

第21回日本分子生物学会年会, 横浜.

13. 山中篤志, 畠山鎮次, 北川雅敏, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/18).

Mitotic Cyclin 分解に関与する UbcH10マウスホモログ, UbcM5の cDNA クローニング及び生化学的解析.

第21回日本分子生物学会年会, 横浜.

14. 築山忠維, 畠山鎮次, 北川雅敏, 中山啓子, 中山敬一 (1998, 12/19).

胸腺細胞特異的発現 p27Kip1トランスジェニックマウスの作製と解析.

第21回日本分子生物学会年会, 横浜.

15. 渡邊裕美, 渡邊 武, 北川雅敏, 中山敬一, 本山 昇 (1998, 12/19).

神経分化時における Rb 蛋白のリン酸化と細胞周期制御機構の解析.

第21回日本分子生物学会年会, 横浜.

16. 小南欽一郎 (1999, 3/18).

分裂酵母におけるユビキチンシステムによる細胞周期制御.

国立遺伝学研究所研究会「新展開するユビキチンワールド」, 三島.