

戦略的創造研究推進事業 CREST
研究領域「生命システムの動作原理と基盤技術」
研究課題「ユビキチンシステムの網羅的解析基盤
の創出」

研究終了報告書

研究期間 平成19年10月～平成25年 3月

研究代表者：中山 敬一
(九州大学・生体防御医学研究所、主
幹教授)

§ 1 研究実施の概要

(1) 実施概要

タンパク質のユビキチン化は重要なタンパク質の制御機構であるが、その全体像を解明しようとする試みはほとんど成功していない。特にユビキチン化酵素とその標的となる基質分子の対応関係の解明はユビキチン系の全貌解明のためには必須であるが、その方法論は全く開発されていない。本研究課題では、ユビキチン化システムの全貌を網羅的に解析するための新たな基盤技術の創出を目的としている。

われわれが開発している方法論は二つの柱から成り立っている。一つは生化学的な方法をプロテオミクスと組み合わせたインタラクション・プロテオミクス(IPX)法であり、もう一つは遺伝学的方法プロテオミクスと組み合わせたリバーサ・プロテオミクス(RPX)である。基本的には九州大学のプロテオミクス・グループが、IPX 法によって酵素-基質関係の候補を絞り出し、そのバリデーションスタディのために東北大学のジェネティクス・グループがその酵素や基質のノックアウトマウスを作製し、各々の予想される生物学的機構に対して解明を進めるという方針を取った。また逆にジェネティクス・グループが作製したノックアウトマウスを用いて、プロテオミクス・グループが RPX 法によって基質を探索する方向も現在完成しつつある。

現在まで、IPX 法に関しては、ほぼ当初の目標を達成した。われわれの開発した IPX 法は正常ユビキチンリガーゼと変異型ユビキチンリガーゼへの基質結合親和性の違いに基づくもので、これを SILAC 法というプロテオミクス技術を組み込んだ方法によって網羅的に基質を決定するという方法であり、一種のディファレンシャル・プロテオミクスに相当する。この方法の優れたところは、結合活性の絶対値ではなく、正常型・変異型の差異に基づいている点であり、結合分子のほとんどを占めるノイズタンパク質(非特異的結合分子)を排除できる点にある。既に 15 以上のユビキチンリガーゼに応用し、その基質を次々と明らかにしている。この方法は今までアドホック的にしか探索できなかった酵素→基質という方向のアプローチを構築する世界で初めての方法論である。これによって今までは生物学的な重要性が不明だったユビキチン化酵素の機能が解明された。

RPX 法については、当初有力な方法論と考えていた 2D-DIGE 法の網羅性が十分ではなかったため、発想を全く転換し、新技術の開発を行った。そこで着目したのはターゲットプロテオミクスの一種である Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法である。MRM 法は 2D-DIGE 法に比較して圧倒的に解析深度が大きく、網羅的にタンパク質の絶対定量を行うことができる。しかし従来の MRM 法は個別にタンパク質を測定する技術であり、大規模に行えるようなものではなかった。われわれはこれを大規模化するために、ヒト完全長 cDNA ライブラリー(25,000 種以上のクローンサイズよりなる)からロボット技術を利用して、試験管内でコムギ胚芽抽出液によってヒト全タンパク質のリコンビナントタンパク質を作製した。さらにそれを全て質量分析することによって、全てのタンパク質に対してほぼ 4 つ以上のプローブペプチドを設定し、総計 13 万種以上のプローブペプチドの(HPLC 保持時間・ペプチド質量・ペプチド断片質量)の 3 次元情報の事前取得によって、全てのタンパク質の絶対定量を可能にするシステムを構築した。われわれはこれを Information-based Multiple Reaction Monitoring (iMRM 法)と命名し、既に実証実験に成功した。iMRM 法の実現化によって原理的に全てのヒトタンパク質の絶対定量が可能になった。われわれはユビキチン系を中心にしながら、代謝系、細胞周期制御、癌化等の生物学的・医学的問題にこの方法論の応用を行い、かつて誰もなしえなかった多くの発見を手にしつつある。

本研究によって多様な生体機能分子の量的・質的制御メカニズムの解明が飛躍的に促進され、さらに創薬やバイオテクノロジーなどの多くの産業分野にとっても重要なイノベーション創出につながる事が期待される。さらに RPX 法の開発過程における iMRM 法の発明は、世界初の「ヒトプロテオーム解読」につながる事が期待される。

(2) 顕著な成果

1.

概要: われわれが開発したインタラクション・プロテオミクス (IPX) 法を用いて、ユビキチンリガーゼ SCF^{FBXL5} の基質タンパク質として Iron Regulatory Protein (IRP) 1 および IRP2 という RNA 結合タンパク質を同定した。さらに FBXL5 ノックアウトマウスを用いて生体内の鉄代謝の中心に FBXL5-IRP2 系が位置することを証明した (*Cell Metabolism*, 14: 339-351, 2011)。

2.

概要: ユビキチンリガーゼ SCF^{SKP2} の基質タンパク質として同定されていた p57^{Kip2} が骨髄幹細胞の維持に必須の役割を果たすことを、薬剤誘導型コンディショナルノックアウトマウスを用いて証明した (*Cell Stem Cell*, 9: 262-271, 2011)。

3.

概要: われわれが開発したリバース・プロテオミクス (RPX) 法の中心部を成す情報基盤多重モニタリング方法 (information-based multiple reaction monitoring: iMRM) について、基礎開発を行い実用化にこぎ着けた。またこの方法に対して特許出願した (特願 2009-169045、国立大学法人九州大学、2009/7/17)。

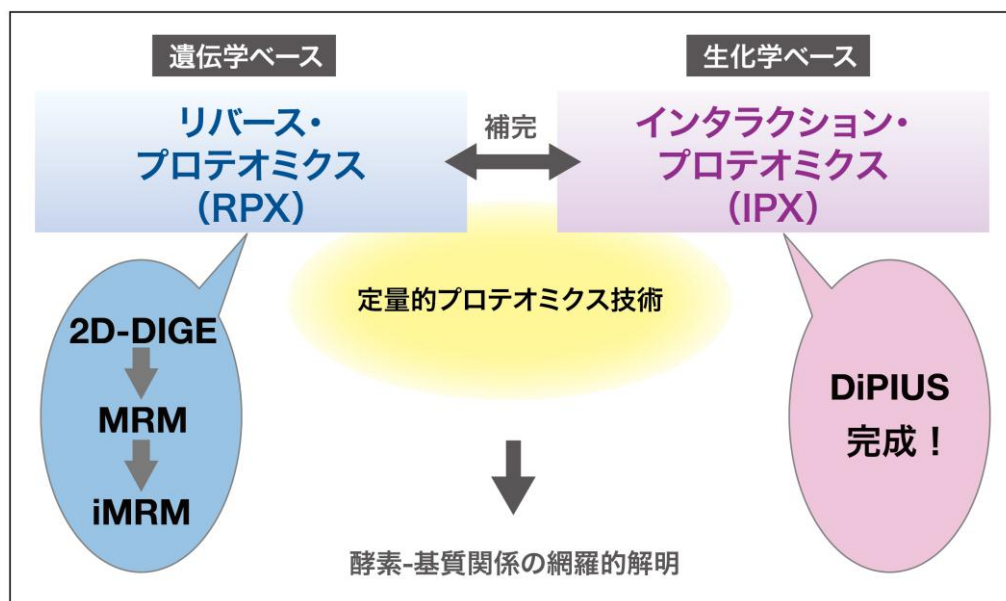
§ 2. 研究構想

(1) 当初の研究構想

タンパク質の翻訳後修飾は生命現象の制御に本質的であり、きわめて重要である。しかし翻訳後の修飾については、現在われわれが持つゲノム情報からは予想できず、網羅的な理解は期待できない。そこで、タンパク質修飾プロファイルの網羅的解析技術の創出が強く求められている。特にタンパク質のユビキチン化はあらゆる生命現象に関わるタンパク質の量的・質的制御機構であるが、その全体像を解明しようとする試みはほとんど成功していない。

本研究課題では、ユビキチンシステムを網羅的に解析できる新たな基盤技術の創出を目標に、発生工学技術とプロテオミクス技術を組み合わせたリバース・プロテオミクス (RPX) 法およびインタラクション・プロテオミクス (IPX) 法を開発し、双方向的なタンパク質翻訳後修飾の網羅的解析基盤を確立することを目指した。IPX 法については開発に成功し、最終的に DiPIUS (Differential Proteomics for Identification of Ubiquitylation Substrates) 法と命名された。また RPX 法は当初計画していた 2D-DIGE 法が網羅性の点から使用できないことが判明したため、MRM 法を採用し、さらにそれを全タンパク質に適応するために Informaiton-based MRM 法 (iMRM 法)を開発するに至った(図1)。

本研究によって多様な生体機能分子の量的・質的制御メカニズムの解明が飛躍的に促進され、さらに創薬やバイオテクノロジーなどの多くの産業分野にとっても重要なイノベーション創出につながることが期待される。



【図1】本研究で用いる二つのプロテオミクス技術 ～双方向プロテオミクスによる網羅的解析

本研究では、生化学ベースのインタラクション・プロテオミクス (IPX) 法と、遺伝学ベースのリバース・プロテオミクス (RPX) 法を組み合わせることによって、ユビキチン化における酵素-基質関係の網羅的解明を目指す。IPX 法は既に DiPIUS 法として完成しているが、RPX 法については種々の変遷を辿り、最終的に iMRM 法を発明するに至った。

(2) 新たに追加・修正など変更した研究構想

本研究の一つの柱であるリバース・プロテオミクス (RPX) 法について、まずわれわれは、二次元電気泳動ベースのディファレンシャル・プロテオミクス技術である 2D-DIGE (Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis) 法を RPX 法の第一候補として開発を進め

ていた。しかし 2D-DIGE 法を適用してみて判明したことは、その網羅性の低さであった。つまり全タンパク質のうち、非常に発現量の多いものしか検出できず、われわれのポジティブコントロールである p27 のように 1 細胞内に 10^4 分子程度しかないような微量タンパク質の検出には数オーダー感度が足りないことが明らかとなり、抜本的な方針転換を迫られた。次に導入を考えた SILAC (Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture) 法や iTRAQ (Isobaric Tag for Relative and Absolute Quantitation) 法等の安定同位体元素ラベル法による相互比較は 2D-DIGE 法よりは格段に網羅性が高いものの、それでも p27 のような微量タンパク質を検出するにはまだ感度が足りないことが判明した。

そこで RPX 法を行うために、従来のディスカバリー・プロテオミクスからターゲット・プロテオミクスへと大きな方向転換を行い、その基盤技術である Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法の確立とより高度な技術開発に取り組んだ。ディスカバリー・プロテオミクスとターゲット・プロテオミクスはどちらも質量分析に基づく方法であるが、前者は「広く浅く」、後者は「深く狭く」を特徴とする解析手法で、どちらの方法もわれわれの目的である「広く深く」は成し得ない。しかしディスカバリー・プロテオミクスは既に進歩がプラトーに達している感があり(これ以上の技術開発には本質的に質量分析計の進歩に依存せざるを得ない)、その一方で従来 1～数種類のタンパク質の定量に使用されていたターゲット・プロテオミクスの感度の高さにわれわれは目を付け、全く新しいターゲット・プロテオミクスの開発に着手した。

その方法としてわれわれが採用したのは MRM 法である。そこでその実際の検出感度を測定するために、細胞内のタンパク質濃度が最も低い部類に属する p27 を MRM 法で検出することをベンチマークとして、種々の技術開発を行った。最終的に、HeLa 細胞の全細胞抽出液の消化物を MRM 解析したところ、内部標準由来のシグナルに完全に一致して内在性 p27 のシグナルが観測され、絶対定量することが可能になった。p27 が検出できたことにより、その他多くのタンパク質も同様に検出できる可能性が高い。

しかしながら、RPX 法の目標である「全タンパク質の絶対定量」というゴールには、原理的に少数のタンパク質しか検出できない MRM 法は不向きである。そこでわれわれは MRM 法を改良して全く新しいターゲット・プロテオミクスを開発することに着手した。

われわれは p27 の MRM 法による絶対定量の成功によって、少なくとも感度的にはほとんど全てのタンパク質を検出・定量する基盤を手にした。そこで問題は、いかに多数のタンパク質を MRM 法で測るようにできるようにするかである。MRM 法では標的ペプチドの MS/MS 情報を用いて MRM-transition を前もって設定(事前情報の取得)する必要があるため、従来 MRM 法はショットガン解析のバリデーション用の手段であるとの認識が一般的であった。しかしながら、仮に標品ペプチドを大規模に(プロテオームワイドに)入手することができれば、それらを用いて事前情報ライブラリーを構築することが可能である。これが実現すれば、あらゆるタンパク質の大規模な絶対定量解析が可能となるはずである。われわれはこの手法を Information-based Multiple Reaction Monitoring (iMRM 法)と名づけ、その実現に向けて要素技術の開発を行ってきた(特願 2009-169045)。

中間評価で受けた指摘・助言については、1) iMRM の専門家の育成、2) 解析法の検証をしっかり行い、データに信頼性がある手法としての世界に向けて発信する、の 2 点において、真剣に取り組んだ。現在 CREST で雇用した 2 名のポスドクがほぼ iMRM 法の技術をマスターし、この技術開発の中心的な役割を果たしている松本 雅記准教授をほぼサポートできるようになった。また iMRM の検証とデータの信頼性については、かなりの精度まで到達しており、近いうちに誌上で発表する予定である。

§ 3 研究実施体制

(1)「プロテオミクス」グループ(九州大学)

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
中山 敬一	九州大学	主幹教授	H19.10～H25.3
白根 道子	九州大学	准教授	H19.10～H25.3
松本 雅記	九州大学	准教授	H19.10～H25.3
束田 裕一	九州大学	准教授	H19.10～H25.3
西山 正章	九州大学	助教	H19.10～H25.3
洲崎 悦生	九州大学	特任助教	H19.10～H22.3
押川 清孝	九州大学	研究員	H20.4～H25.3
中津海 洋一	九州大学	研究員	H21.6～H25.3
小山田 浩二	九州大学	研究員	H19.10～H25.3
小野山 一郎	九州大学	研究員	H19.10～H23.3
雑賀 徹	九州大学	研究員	H19.10～H21.3
弓本 佳苗	九州大学	研究員	H19.10～H25.3
武石 昭一郎	九州大学	研究員	H19.10～H25.3
松本 有樹修	九州大学	研究員	H19.10～H24.3
松崎 芙美子	九州大学	研究員	H19.10～H25.3
諸石 寿朗	九州大学	研究員	H20.4～H25.3
蟹江 友春	九州大学	研究員	H21.4～H25.3
中川 直	九州大学	大学院生(博士)	H19.10～H20.3
於 昊龍	九州大学	大学院生(博士)	H19.10～H20.3
立石 悠基	九州大学	大学院生(博士)	H20.4～H24.3
片山 雄太	九州大学	大学院生(博士)	H19.10～H25.3
細田 將太郎	九州大学	大学院生(博士)	H19.10～H25.3
沖田 康孝	九州大学	大学院生(博士)	H22.4～H25.3
幡野 敦	九州大学	大学院生(博士)	H22.4～H25.3
宗岡 哲也	九州大学	大学院生(博士)	H22.4～H25.3
山内 隆好	九州大学	大学院生(博士)	H22.4～H25.3
西村 泰亮	九州大学	大学院生(博士)	H23.4～H24.3
喜多 泰之	九州大学	大学院生(博士)	H22.4～H25.3
舟崎 慎太郎	九州大学	大学院生(博士)	H24.4～H25.3
磯下 理恵子	九州大学	大学院生(博士)	H24.4～H25.3
橋本 寛	九州大学	大学院生(博士)	H24.4～H25.3
山村 聡	九州大学	大学院生(博士)	H24.4～H25.3
小坂 康士	九州大学	大学院生(修士)	H19.10～H21.3
杉本 直樹	九州大学	大学院生(修士)	H19.10～H20.3
山田 政典	九州大学	大学院生(修士)	H19.10～H21.3
坪井 智広	九州大学	大学院生(修士)	H20.4～H21.12
大西 隆史	九州大学	大学院生(修士)	H23.4～H25.3
西 光悦	九州大学	大学院生(修士)	H23.4～H25.3
井上 一平	九州大学	大学院生(修士)	H24.4～H25.3

②研究項目

・ユビキチンシステムのプロテオミクス解析

RPX 及び IPX の基盤技術を確立し、ジェネティクスグループが作製したノックアウトマウスを用いて、実際にこれらの方法を応用する。RPX と IPX の組み合わせによって得られた基質候補分子に対して、バリデーションスタディを行い、最終的に情報生物学的解析を行う。

(2)「ジェネティクス」グループ(東北大学)(平成 23 年 2 月まで)

① 研究参加者

氏名	所属	役職	参加時期
中山 啓子	東北大学	教授	H19.11～H23.2
石田 典子	東北大学	助教	H19.11～H23.2
舟山 亮	東北大学	助教	H19.12～H23.2
西田 有一郎	東北大学	助教	H22.4～H23.2
原 賢太郎	東北大学	研究員	H19.11～H20.3
山田 秀俊	東北大学	研究員	H20.4～H21.9
中野 星児	東北大学	研究員	H21.4～H23.2
石川 善則	東北大学	大学院生(博士)	H19.11～H21.3
益田 邦洋	東北大学	大学院生(博士)	H20.4～H21.9
荒木 孝明	東北大学	大学院生(博士)	H21.5～H23.2
高野 成尚	東北大学	大学院生(博士)	H22.5～H23.2
細金 正樹	東北大学	大学院生(博士)	H20.4～H23.2
柳原 徳子	東北大学	大学院生(修士)	H20.4～H21.3
青山 慧	東北大学	大学院生(修士)	H20.4～H22.3
村井 寛子	東北大学	大学院生(修士)	H20.4～H22.3
佐々木 陽丞	東北大学	大学院生(修士)	H21.4～H23.2
日當 愛美	東北大学	大学院生(修士)	H21.4～H22.3

②研究項目

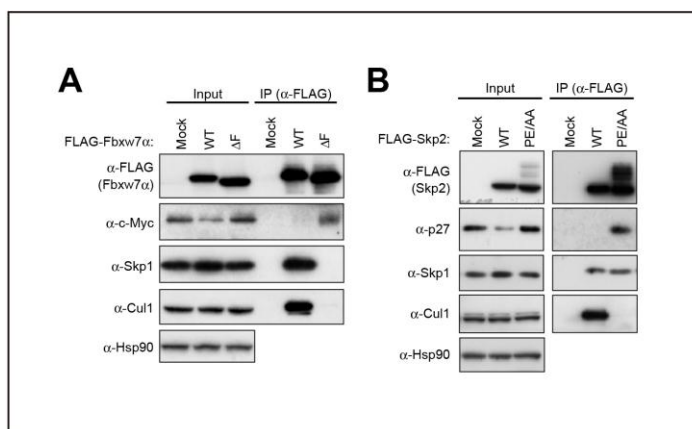
・ユビキチンリガーゼノックアウトマウスの作製・解析

生物学的に重要と思われるユビキチンリガーゼ(E3)に対してノックアウトマウスの作製を行い、その表現型を詳細に解析する。

§ 4 研究実施内容及び成果

4. 1 インタラクション・プロテオミクス(IPX)技術の開発(九州大学 プロテオミクス・グループ) (1)研究実施内容及び成果

ユビキチン介在性のタンパク質分解機構は、基質分子を特異的に認識し分解する機構として、細胞内タンパク質の量的制御に重要な役割を果たしている。SCF 型ユビキチンリガーにおいてはF-boxタンパク質が基質特異性を担っており、分解される基質分子に特異的に結合する。現在、約70種類のF-boxタンパク質が知られているが、その大部分は対応する基質分子が同定されていないため、機能未知のまま残されている。本研究グループは、網羅的にF-boxタンパク質の基質分子を同定する方法を開発するために、F-boxタンパク質としてSkp2、その基質分子としてp27を指標とし、プロテオミクス技術を用いて安定にp27が同定できる条件を検討した。Skp2^{-/-}マウス由来の胎仔線維芽細胞ではSkp2の基質分子であるp27やサイクリンEなどの蓄積が見られるが、この蓄積を銀染色により検出することは不可能だった。そこで、本研究チームはSkp2-p27の結合を指標とすることを試みた。ところが野生型Skp2はp27と結合すると、速やかにp27を分解してしまうので、この酵素基質結合を安定的に検出することは困難であった。そこでわれわれはSkp2のF-boxドメインに変異を導入し、p27と結合できるが分解はできないような状態をつくりあげた。するとF-box変異型Skp2では、野生型Skp2とは異なり、効率よくp27との結合が検出できた。この変異型Skp2をHeLa細胞に発現させ、免疫沈降産物を質量分析計で測定した結果、p27のペプチドが確認された。同様にF-boxタンパク質Fbxw7とその基質であるc-Mycについても同様の解析を行い、c-Mycが変異型Fbxw7により強く結合することを確認した(図2)。

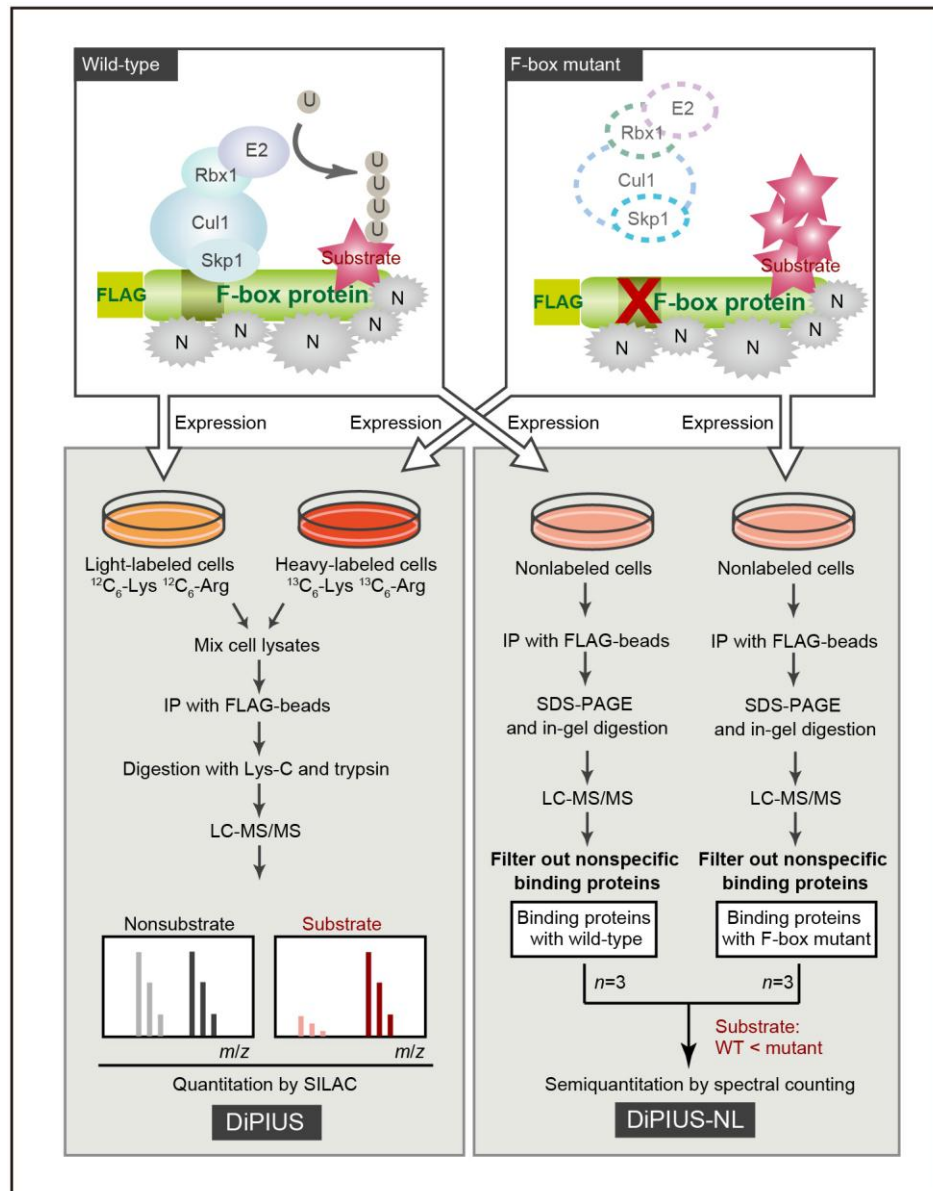


【図2】変異型F-boxタンパク質と基質は安定的に結合する

(A) mCAT-HeLa細胞にFLAGタグを付加した野生型(WT)のFbxw7αとF-box欠損変異型(ΔF)のFbxw7α、および空ベクター(Mock)を過剰発現し、FLAG抗体で免疫沈降を行った。免疫沈降物および細胞抽出液を、記載の抗体で免疫ブロットを行った。(B) mCAT-HeLa細胞にFLAGタグを付加した野生型(WT)のSkp2とF-box点変異型(PE/AA)のSkp2、および空ベクター(Mock)を過剰発現し、FLAG抗体で免疫沈降を行った。免疫沈降物および細胞抽出液を、記載の抗体で免疫ブロットを行った。

野生型のF-boxタンパク質よりも変異型のF-boxタンパク質により効率よく結合するタンパク質を網羅的に同定するために、われわれはDiPIUS (differential proteomics-based identification of ubiquitylation substrates) 法を確立した(図3)。野生型もしくは変異体のF-boxタンパク質のN末端にFLAGタグをつけたコンストラクトをmCAT-HeLa細胞もしくはHEK293T細胞に発現させ、その細胞をSILAC (Stable Isotope Labeling by Amino acids in Cell culture) 法によりラベルした。詳しくは、野生型F-boxタンパク質を発現させた細胞

は通常の(Light) medium で、変異型 F-box タンパク質を発現させた細胞は安定同位体リジン・アルギニンを含んだ Heavy medium で培養した後、細胞抽出液を混合し、FLAG 抗体で免疫沈降し、トリプシンで処理して、LC-MS/MS 解析を行った。また、ラベルしていない細胞にそれぞれを発現させ、独立して免疫沈降して LC-MS/MS 解析を行い、スペクトルカウント法を用いて半定量した。この方法を以降、DiPIUS-NL と呼ぶ(図3)。

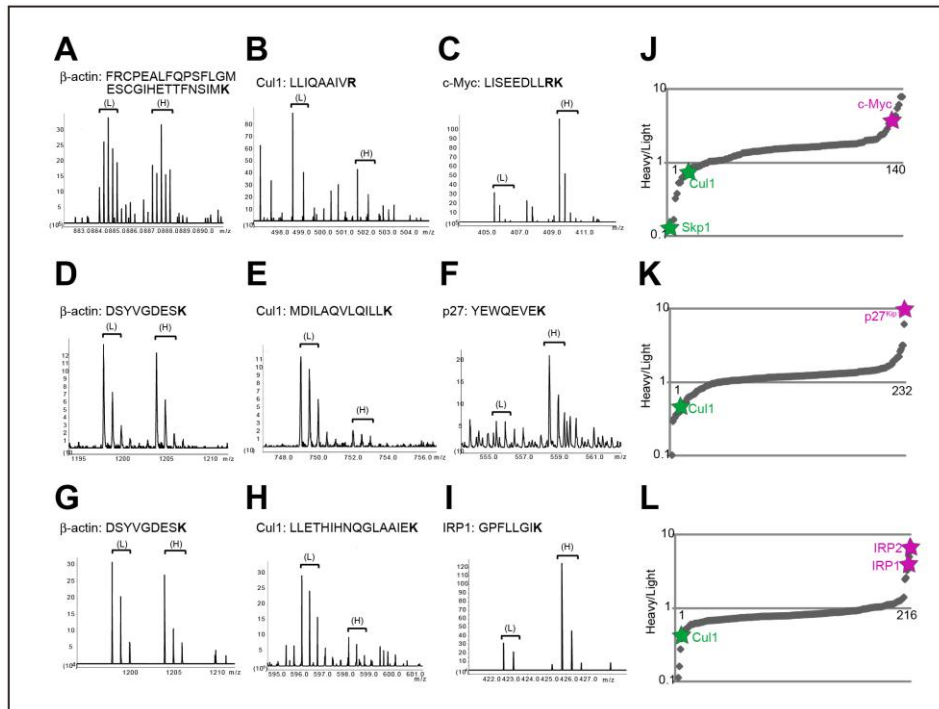


【図3】 F-box タンパク質の網羅的基質同定のための戦略

DiPIUS および DiPIUS-NL の略図を示す。野生型および変異型の F-box タンパク質に結合するタンパク質を定量的な SILAC 法(DiPIUS 法)もしくは半定量的なスペクトルカウント法(DiPIUS-NL 法)で解析される。U:ユビキチン、N:非特異的結合タンパク質。

われわれは3つの良く知られた F-box タンパク質である Fbxw7α、Skp2、Fbxl5 に DiPIUS 法を適用した。われわれは基質候補を Heavy/Light 比 ≥ 3 の結合タンパク質とした。DiPIUS は野生型と変異型の F-box タンパク質の発現レベルが同じであるという想定のもとに行っている。しかし、実際には発現量は完全に同じであるということはほとんどなく、わずかな発現量の違いが Heavy/Light 比のベースラインの比のシフトをもたらすことがある。

われわれは DiPIUS 法で既知の基質を含む多くの基質候補分子を同定した。その中には Fbxw7 α の基質としての c-Myc (図4C,J)、Skp2 の基質としての p27 (図4F,K)、Fbxl5 の基質としての IRP1 および IRP2 (図4I,L)が含まれる。これらの基質は各解析において高い Heavy/Light 比を示した。それに対して、典型的な非特異的結合タンパク質である β -actin は、野生型と変異体ではほぼ同程度の結合を示した (図4A,D,G)。Cul1 は SCF 複合体の構成因子であり、全ての実験で低い Heavy/Light 比を示した (図4B,E,H)。このことは各変異型の F-box タンパク質は SCF 複合体を形成できないことを質量分析計レベルで示している。以上のことより DiPIUS 法は F-box タンパク質の基質を同定する手法として有効であることを示唆している。

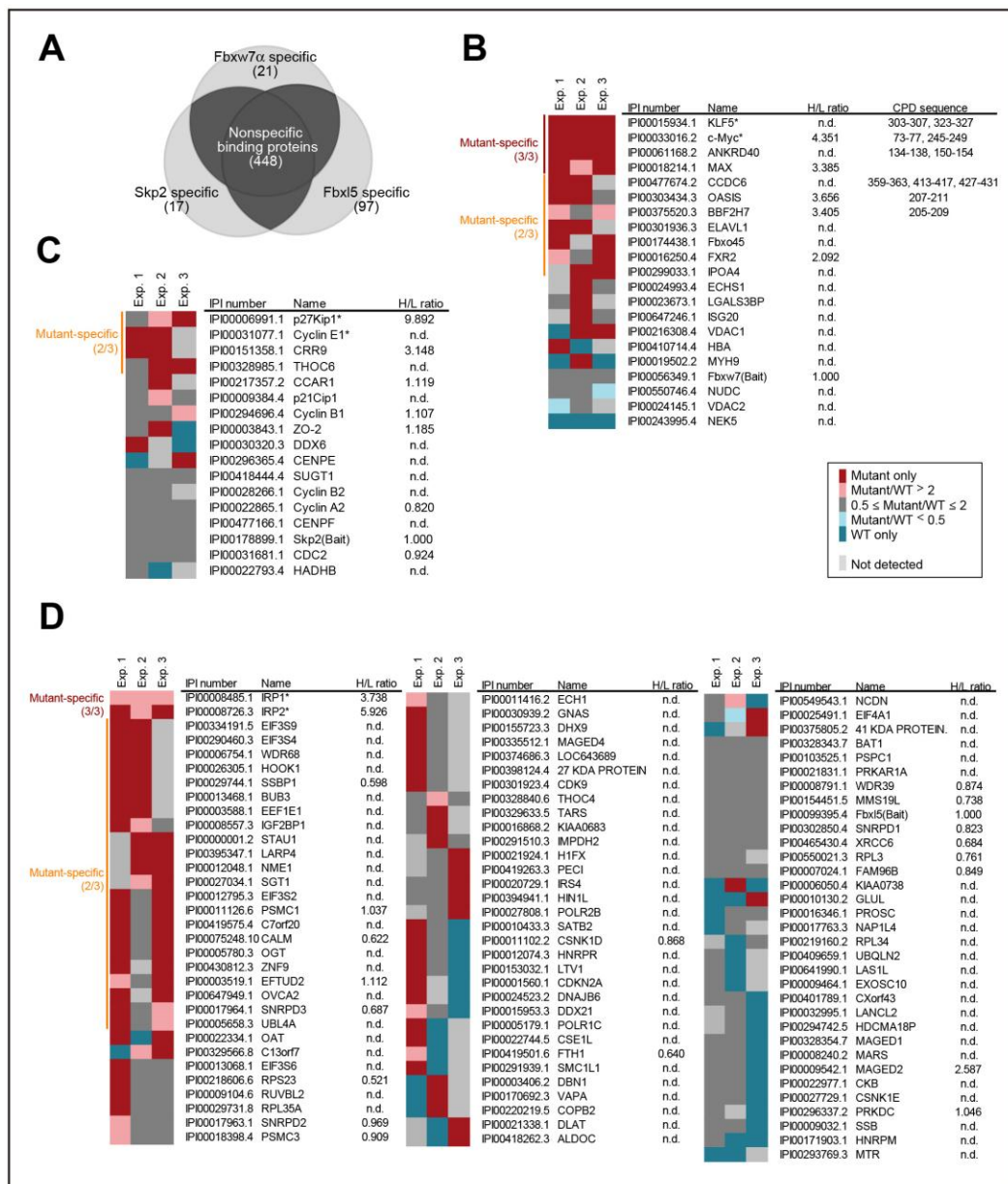


【図4】 SILAC により定量された Fbxw7 α 、Skp2、Fbxl5 の基質候補

(A-C) Fbxw7 α 結合タンパク質の SILAC 解析により検出された MS スペクトルの一例。 β -actin (A)、Cul1 (B)、c-Myc (C)に由来するトリプシン消化ペプチドのピークは、それぞれ Light (L)が野生型由来のものを、Heavy (H)が変異型由来のものを示す。(D-F) Skp2 結合タンパク質の SILAC 解析により検出された MS スペクトルの一例。 β -actin (D)、Cul1 (E)、p27 (F)に由来するトリプシン消化ペプチドのピークは、それぞれ Light (L)が野生型由来のものを、Heavy (H)が変異型由来のものを示す。(G-I) Fbxl5 結合タンパク質の SILAC 解析により検出された MS スペクトルの一例。 β -actin (G)、Cul1 (H)、IRP1 (I)に由来するトリプシン消化ペプチドのピークは、それぞれ Light (L)が野生型由来のものを、Heavy (H)が変異型由来のものを示す。(J) Fbxw7 α の SILAC 解析における Heavy/Light 比のプロット図。(K) Skp2 の SILAC 解析における Heavy/Light 比のプロット図。(L) Fbxl5 の SILAC 解析における Heavy/Light 比のプロット図。

SILAC を用いたオリジナルの DiPIUS が、既知の基質を少数しか同定できなかったため、これらの F-box タンパク質を半定量的なスペクトルカウント法を用いた DIPIUS-NL 法で解析した。この方法をわれわれは独立に 3 回行い、Fbxw7 α 、Skp2、Fbxl5 に結合するタンパク質をそれぞれ 426、379、515 分子、得ることができた (図5A)。これらの結合タンパク質のうち、405、362、418 タンパク質は少なくとも Fbxw7 α 、Skp2、Fbxl5 のうち 2 種類以上に結合する非特異的結合タンパク質であるため、解析の対象から外した。残った 21、17、97 タン

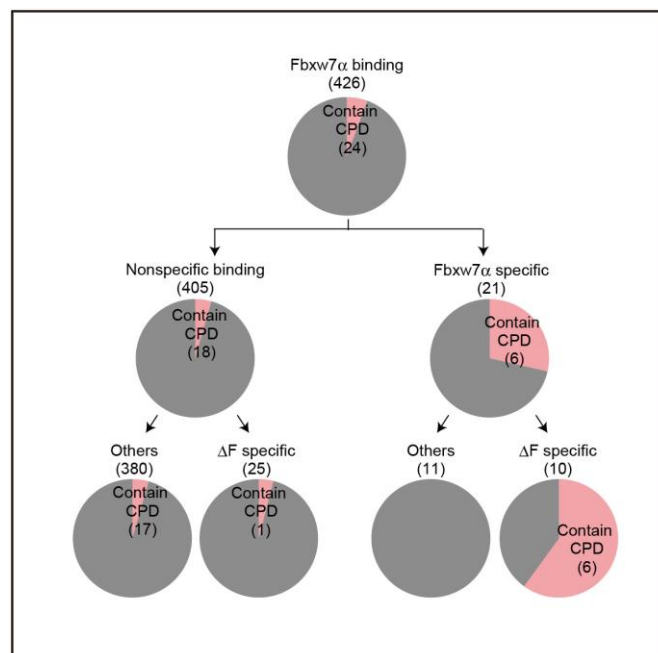
パク質に関して、野生型と変異型の結合タンパク質の比をスペクトルカウントにより比較した。われわれは変異型の F-box タンパク質に特異的に結合する基質候補分子を、3 回中 2 回以上の実験で、変異型の検出 peptide 数/野生型の検出 peptide 数 >2 である分子と定義した。DiPIUS-NL においても、c-Myc は Fbxw7 α の既知の基質として同定された。これは、遺伝学的に胸腺特異的 Fbxw7 欠損マウスにおける胸腺の過形成が c-Myc との二重欠損により元に戻ることに一致している。加えて、Fbxw7 α の既知の基質として報告されている他の転写因子 Krüppel-like factor 5 (KLF5) もまた、高いスコアで検出された。Skp2 の実験では p27 と cyclin E1 が基質候補として同定されたが (図 5C)、これも以前の報告と一致している。IRP1 と IRP2 は Fbx15 の基質候補として高いスコアを示しているが、これはオリジナルの DiPIUS 結果 (図 4L) および、Fbx15 欠損マウスの胎生致死の表現型が IRP2 とのダブルノックアウトマウスにより回復するというわれわれの遺伝学的な検証実験にも一致している (後述)。DiPIUS-NL は F-box タンパク質の基質候補として数多くの候補を得ることができるが、SILAC を用いたオリジナルの DiPIUS と比較すると偽陽性の結果が含まれる傾向にある。



【図5】 スペクトルカウント (DiPIUS-NL) により定量された Fbxw7 α 、Skp2、Fbx15 の基質候補

(A) 各 F-box タンパク質の同定された結合タンパク質のベン図。(B-D) 各 F-box タンパク質 (Fbxw7 α (B)、Skp2 (C)、Fbxl5 (D)) に特異的に結合したタンパク質を示す。野生型と変異型 F-box タンパク質のスペクトルカウントにより同定された数の比をカラースケールで示している。3 回の実験のうち 2 回以上の実験において、変異型/野生型の比が >2 のタンパク質を、野生型よりも変異型の F-box タンパク質により結合するタンパク質としてみなす。DiPIUS 法により得られた SILAC 比もまた示してある。(B)においては CPD 配列を持つものを記載している。n.d.: 検出せず、アスタリスク: 既知の基質。

mCAT-HeLa 細胞を用いた Fbxw7 α の DiPIUS-NL 法の結果において、426 分子の結合タンパク質のうち、405 分子は他の F-box タンパク質にも結合するタンパク質であり、21 分子は Fbxw7 α に特異的に結合するタンパク質である。このうち、10 分子は基質候補 (score >2) に分類される。この 10 分子のうち 6 分子は Fbxw7 の基質分子が持っている Cdc4 phosphodegion (CPD) 配列を含んでいる (図6)。対して、Fbxw7 α に結合する 405 分子のうち 25 分子 (6.1%) は基質候補のカテゴリーの中に分類される。しかしこの 25 分子のうち 1 分子 (4%) しか CPD 配列を含んでいない。これらの結果は、DiPIUS-NL 法において複数の F-box タンパク質に結合するタンパク質を除去するという方法は、真の基質を濃縮するのに有効であることを示唆している。CPD 配列を持たないのに変異体の特異的に結合するタンパク質は False positive であるのだろう。例えば、MAX Max は c-Myc の binding partner であるが、c-Myc が Fbxw7 α 変異体により結合するため、その binding partner である Max が False positive として検出されるものと推測している。以上のことより、これらの結果は DiPIUS 法が F-box タンパク質の基質同定に有効であるということを示している。

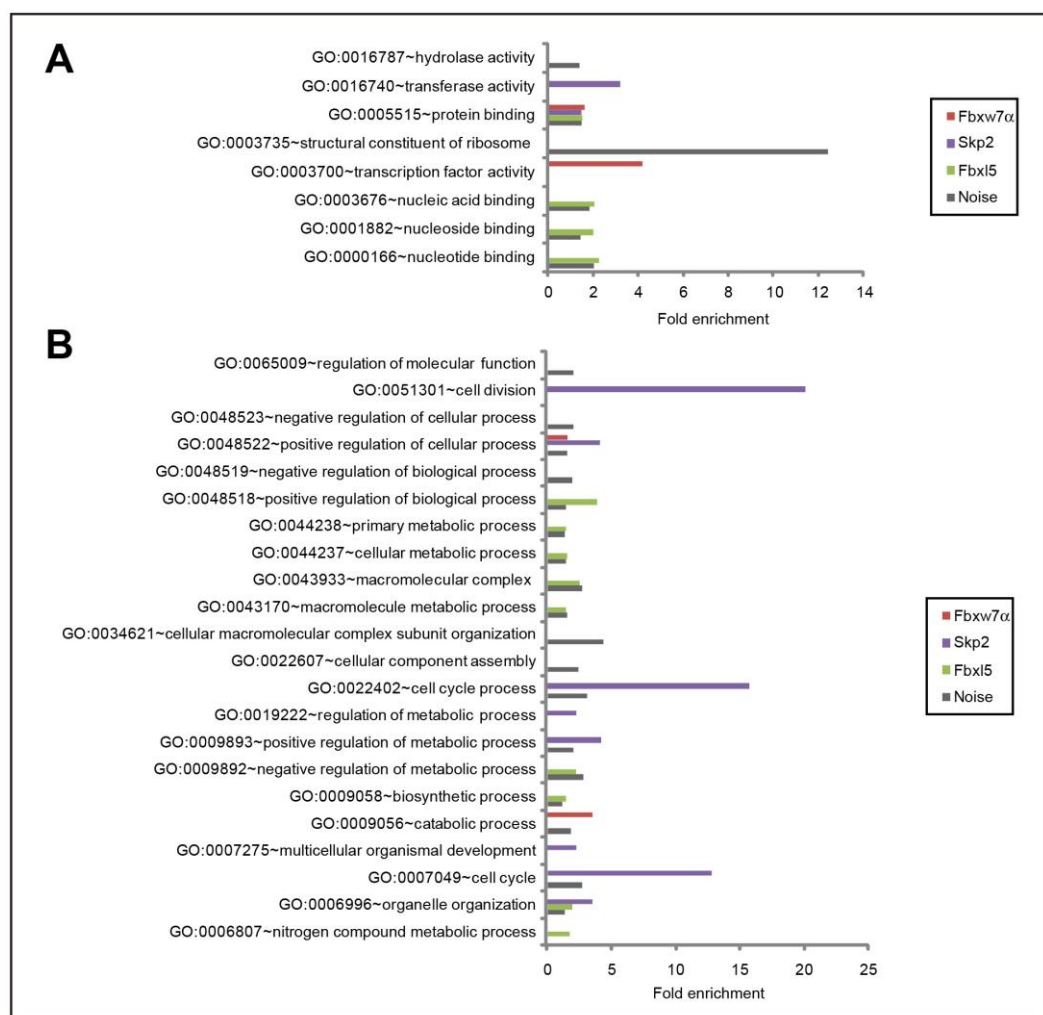


【図6】 DiPIUS-NL 解析で Fbxw7 α に結合するタンパク質の数および分布

Fbxw7 α 結合タンパク質を2つのグループ「非特異的結合タンパク質 (Skp2、Fbxl5 にも結合する)」と Fbxw7 α 結合タンパク質に分けられる。これらの結合タンパク質をまた「変異型 (ΔF) 特異的結合タンパク質」と「それ以外」に分けた。CPD 配列を持っているタンパク質は、Fbxw7 α (ΔF)特異的結合タンパク質に濃縮される。

次にわれわれは、Database for Annotation, Visualization, and Integrated Discovery (DAVID)を用いて、Fbxw7 α 、Skp2、Fbxl5 に特異的に結合するタンパク質、および非特異的結合タンパク質に対する Gene ontology (GO) 解析を行った (ヒトデータベースと比較し

て2倍以上の濃縮、 $P < 0.05$) (図7)。図7Aでは分子機能で、図7Bでは生物過程でまとめている。GO解析により、Fbxw7 α 特異的に結合するタンパク質は“transcription factor activity”が特徴づけられた(4倍以上の濃縮)(図7A)。これは、Fbxw7 α の基質が c-Myc、Notch、KLF5、c-Jun、TGIF、SREBP 等、ほとんどが転写因子であることと一致している。また、Fbxw7 α 特異的に結合するタンパク質は他にも“positive regulation of cellular process”、“catabolic process”が特徴づけられる(図7B)。Skp2 に特異的に結合するタンパク質に関しては、“cell division”、“cell cycle process”、“cell cycle”が一般的なヒトのデータベースと比較して10倍以上濃縮された(図7B)。このことは、Skp2 は細胞周期制御因子と特異的に結合することを示唆している。このことはまた、Skp2 がサイクリン依存性キナーゼインヒビター(p21、p27、p57)およびG1サイクリン(サイクリンD1、サイクリンE1)をユビキチン化することとも一致している(後述)。Fbxl5 結合タンパク質は、三倍以上の濃縮がかかったものがなかった。以上のことから、これらの結果はF-boxタンパク質が特定の細胞機能・分子機能に特化していることを示唆している。



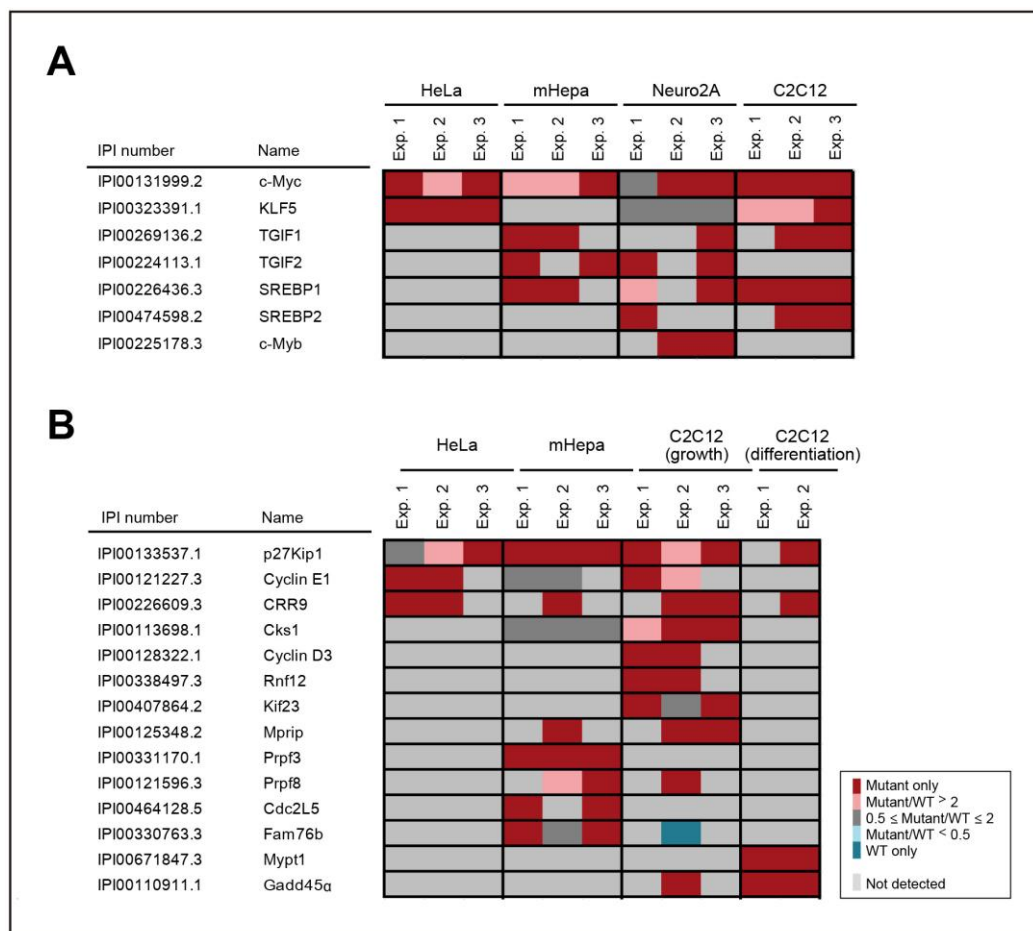
【図7】それぞれの F-box タンパク質に特異的に結合するタンパク質群の遺伝子オンロジー(GO)解析

DAVID ($P < 0.05$)による Fbxw7 α 、Skp2、Fbxl5 の GO 解析。(A)は分子機能を、(B)は生物過程に関するカテゴリーを示す。

Fbxw7 や Skp2 に関しては多くの基質が報告されているが、mCAT-HeLa 細胞を用いた DiPIUS ではこれらの基質のうち一部しか同定できていない。われわれは HeLa 細胞では、

基質分子自身か、基質をリン酸化するキナーゼか、そのキナーゼを活性化するシグナル分子を欠いているために、これらの基質が DiPIUS で検出できないと予想した。この検証のため、われわれは mHepa 細胞 (肝細胞株)、Neuro2A 細胞 (神経芽腫株)、C2C12 細胞 (間葉細胞株) で Fbxw7 α を用いて DiPIUS をおこなった。われわれは mHepa 細胞、Neuro2A 細胞、C2C12 細胞で Fbxw7 α の既知の基質である TGIF1、TGIF2、SREBP1、SREBP2、c-Myb を同定した (図 8A)。これらは mCAT-HeLa 細胞を用いた場合には同定されていない。c-Myc は実験した全ての細胞で同定されたが、KLF5 は mCAT-HeLa 細胞と C2C12 細胞でしか同定されなかった。c-Myb は Neuro2A 細胞でしか同定されなかった。

さらにわれわれは mHepa 細胞、C2C12 細胞で Skp2 を用いて DiPIUS をおこなった。C2C12 細胞に関しては、未分化条件と、筋芽細胞分化条件で同様に実験を行った (図 8B)。p27 は全ての細胞で検出されたものの、mCAT-HeLa 細胞、mHepa 細胞、C2C12 細胞で同定された基質は異なっていた。Cyclin E1、Cks1、Kif23、Cyclin D3、Rnf12、Mrip1 は、未分化の C2C12 細胞でのみ基質候補として同定された。一方、Mypt1、Gadd45 α は筋芽細胞に分化した筋芽細胞でのみ基質候補として同定された。これらの結果から、DiPIUS では異なる細胞や異なるコンディションで異なる基質が同定される。



【図 8】異なる細胞や異なるコンディションを用いて Fbxw7 α や Skp2 の既知の基質を検出する

(A) mCAT-HeLa 細胞 (Figure 4B と同じ)、mHepa 細胞、Neuro2A 細胞、C2C12 細胞を用いた DiPIUS-NL 法により同定された Fbxw7 α の既知の基質を示す。野生型と変異型 F-box タンパク質のスペクトルカウントにより同定された数の比をカラースケールで示している。3 回の実験のうち 2 回以上の実験において、変異型/野生型の比が >2 のタンパク質を、野生型よりも変異型の F-box タンパク質により結合するタンパク質としてみなす。(B)

mCAT-HeLa 細胞 (Figure 4B と同じ)、mHepa 細胞、C2C12 細胞 (未分化状態および分化後) を用いた DiPIUS-NL 法により同定された Skp2 の既知の基質および基質候補を示す。

われわれは、DiPIUS 法がバイアスなく網羅的にユビキチンリガーゼの基質を複数同定できることを示した。哺乳類のユビキチンリガーゼの基質を同定する方法については、いくつかの手法が報告されている。しかしこれらの方法と比較して、あるユビキチンリガーゼの基質を、結合を元に精製するという DiPIUS 法にはいくつかのアドバンテージがある。DiPIUS の原理は、野生型と変異 F-box タンパク質を発現する細胞の基質量の差異を検出することである。既知の方法では除けなかったこうした非特異的なタンパク質は、野生型と F-box 変異型に同程度に結合されることが予想されるため、簡単に候補から除くことができる。われわれの手法はゆえに多くの非特異的なタンパク質を除去して基質候補を濃縮することができる。

(2)研究成果の今後期待される展開

現在、DiPIUS 法を多くの F-box タンパク質に対して応用を行っており、全て順調に結果を得ている。さらに DiPIUS 法の拡張性を検証するため、SCF 複合体以外のユビキチンリガーゼに対しても DiPIUS 法を応用した。まず SCF 複合体に部分的に構造が類似している ECV 複合体に対して、その基質結合サブユニットである VHL に対して DiPIUS 法を適用したところ、既知の基質である HIF1 α 、HIF2 α が同定された。このことは DiPIUS 法が SCF 複合体だけではなく、その類似複合体にも応用可能であることを示す証拠である。さらに現在われわれは DiPIUS 法を MDM2 (p53 に対するユビキチンリガーゼ) に応用し、良好な結果を得ている。

これらの結果から、IPX 法の最終形である DiPIUS 法は全てのユビキチンリガーゼに適用可能な、全く新しいユビキチンリガーゼの基質同定法であり、ユビキチン関連のバイオロジーに革新的な進歩をもたらす新方法としてその利用が期待される。

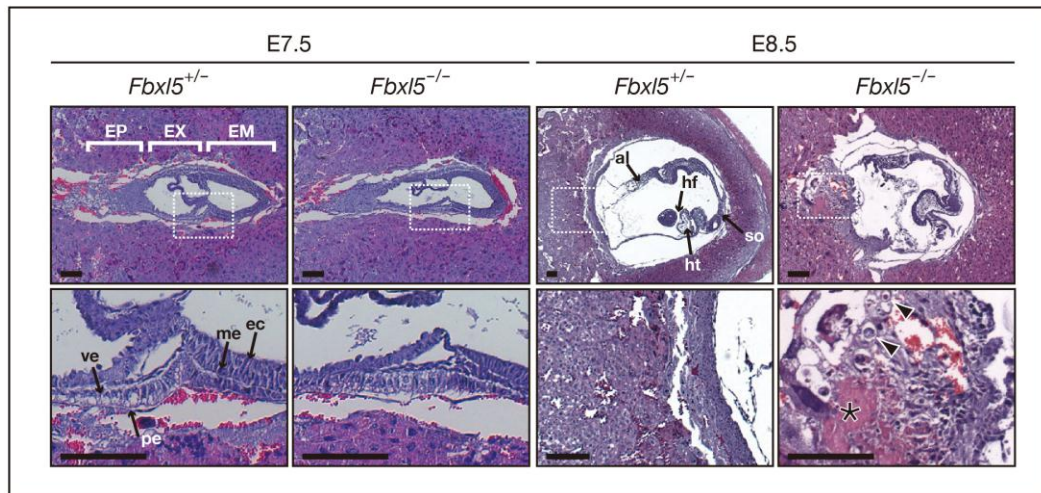
4.2 IPX 法による FBXL5 基質の発見とその機能解析 (九州大学 プロテオミクス・グループ、東北大学 ジェネティクス・グループ)

(1)研究実施内容及び成果

上記のように、DiPIUS 法によってユビキチンリガーゼ Fbxl5 の基質候補として、われわれは IRP1 (iron-regulatory protein 1) および IRP2 を同定した。IRP1/2 は RNA 結合タンパク質であり、鉄欠乏条件下において mRNA 上の鉄応答エレメント IREs (iron-responsive elements) というシス調節ヘアピン構造と相互作用し、鉄恒常性維持に必要なタンパク質をコードする mRNA の翻訳や安定性を調節する。IRP1/2 は、ferritin、ferroportin、Alas2、TfR1 などの mRNA 安定性を調節することによって細胞内鉄濃度をコントロールする。それに対して、鉄過剰条件下では IRP1/2 がユビキチン・プロテアソーム系によって分解され、細胞内鉄濃度は減少する。われわれが DiPIUS で同定した Fbxl5 はこの IRP1/2 の量的調節に重要な因子である可能性が高い。この仮説を検証し、その生物学的意義を調べるために、われわれはマウス *Fbxl5* 遺伝子を全身と臓器特異的にそれぞれ欠損させ、IRP 依存性の鉄代謝の変化を調べることにした。

Fbxl5 の欠損マウスを作製するため、マウス胚性幹 (ES) 細胞において、F-box ドメインをコードする第 4 エクソンと第 5 エクソンを、IRES-*lacZ* および PGK-*neo*-poly(A)-loxP カセットで置換することによって、Fbxl5 遺伝子を破壊した。ヘテロ接合体同士の交配によって得られた出生児の割合を見てみると、ヘテロ接合体および野生型の出生率は正常であるにもかかわらず、ホモ接合変異体は出生した 372 個体の間で検出されなかった。従ってこの遺伝子変異は、ホモ接合状態において胎生致死であることが予想された。ほとんどの Fbxl5 ノックアウトマウス胚は E7.5 では正常に見えたが、E8.5 以降では発育遅延と大規模な出血を

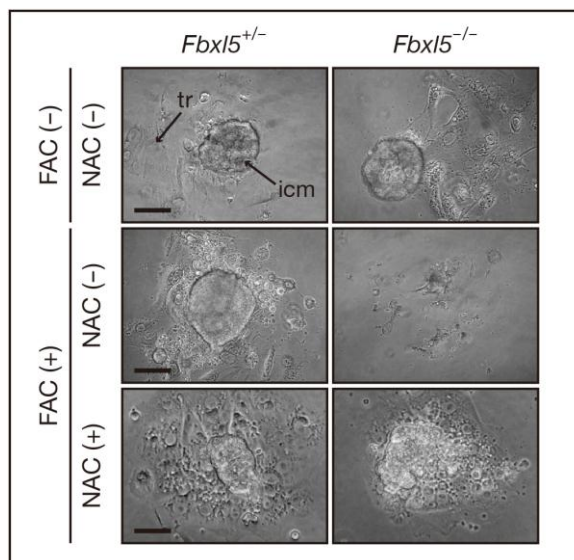
示し、母体に吸収された(図9)。組織病理学的検査では、Fbx15 ノックアウトマウスは E7.5 において明らかな異常は認められなかったが、E8.5 では発育遅延を呈し、生存不能となった。このとき凝縮核を伴うアポトーシス細胞と出血が観察された。つまり、これらの結果は Fbx15 が初期胚発生に必須であることが示唆している。



【図9】 Fbx15 ノックアウトマウス胚の組織病理学所見

Fbx15^{-/-}および *Fbx15*^{+/-}胚の発達を E7.5 および E8.5 において示してある。上部の囲み領域を下のパネルで高倍率に表示している。胎盤外円錐領域におけるアポトーシス細胞(矢印)と、出血やフィブリン(アスタリスク)を示す。略語: ec, ectoderm; me, mesoderm; pe, parietal endoderm; ve, visceral endoderm; so, somites。スケールバーは、100 μ m。

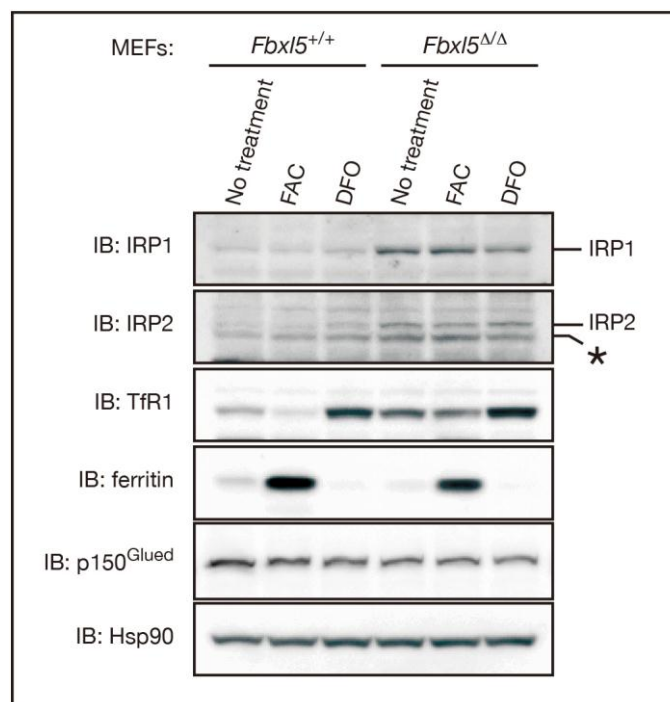
われわれは Fbx15 ノックアウトマウス胚盤胞を培養し、その成長を調べた。通常の鉄条件下で培養すると、Fbx15 ノックアウトマウス胚盤胞は培養皿に接着し成長し、正常な栄養膜巨細胞と内部細胞塊を生産した。このことは、Fbx15 ノックアウトマウス胚盤胞は鉄ストレスの無い状態では正常に発育することを示唆している。しかしながら、鉄過剰条件下で培養すると、Fbx15 ノックアウトマウス胚盤胞における栄養外胚葉と内部細胞塊の発育はともに障害された。そしてこの発育障害は、抗酸化である NAC (*N*-acetyl-L-cysteine)の存在によって免れた(図10)。つまり Fbx15 が存在しない状態では、早期胎盤だけではなく胚組織も同様に、鉄過剰とそれによる酸化ストレスによって損傷されることが示された。



【図10】 Fbx15 ノックアウトマウス胚の組織病理学所見

Fbxl5^{-/-}および *Fbxl5*^{-/-}胚盤胞を、クエン酸鉄アンモニウム (FAC、50 μg/ml) または N-アセチル-L-システイン (NAC、1 mM) の存在下または非存在下で 5 日間、in vitro で培養した。*Fbxl5*^{+/-}および *Fbxl5*^{-/-}胚盤胞の発育を E8.5 で検討した。略語: icm, inner cell mass; tr, trophectoderm。スケールバーは、100 μm。

Fbxl5 ノックアウトマウスは胎生早期に致死となるため、われわれは *Fbxl5* 遺伝子を条件付きに組織特異的に欠損するようなマウスを作製した。この目的のために、われわれはまず、第 4 エクソンと第 5 エクソンを loxP 配列で挟んだ *Fbxl5* の“floxed”対立遺伝子をもつマウスを作り出した。次に E13.5 の *Fbxl5*^{+/-}マウス胚および *Fbxl5*^{F/F} マウス胚からそれぞれマウス胎仔線維芽細胞 (MEF) を調製し、続いて Cre リコンビナーゼをコードするレトロウイルスベクターをこれらの細胞に感染させた。われわれは、*Fbxl5*^{F/F} マウス胚から作製した MEF において、ほぼすべての“floxed”対立遺伝子が Cre リコンビナーゼによって削除されたことを確認し、*Fbxl5*^{Δ/Δ} MEF とした。イムノブロット解析の結果、*Fbxl5*^{Δ/Δ} MEF では、IRP1 と IRP2 の存在量が増加していることが明らかになった (図 11)。そのような IRP の蓄積は鉄過剰条件下でも明らかであった。この発見と一致し、IRP の標的 mRNA がコードするタンパク質の発現量もまた、制御に異常をきたしていた。即ち、TfR1 (鉄の取り込みを行う) の発現量は増加しており、一方、ferritin (鉄貯蔵を行う) の発現量はおそらく IRP による翻訳抑制作用の結果減少していた (図 11)。このことから *Fbxl5* は通常では IRP1/2 の分解に関与しており、*Fbxl5* の欠損はこれらの基質タンパク質の安定化を招き、その総量が増加することが示唆された。

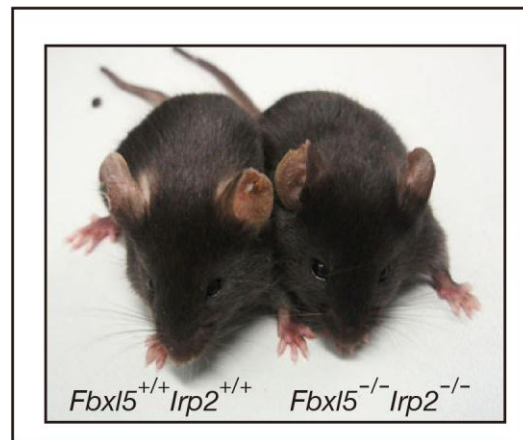


【図 11】 *Fbxl5* ノックアウト MEF における IRP1/2 の蓄積

Fbxl5^{+/-}または *Fbxl5*^{Δ/Δ} MEFs を、FAC (100 μg/ml) または鉄キレート剤であるデスフェロキサミン (DFO、100 μM) の存在下または非存在下で、16 時間培養し、次いで記述したタンパク質に対する抗体を用いてイムノブロット (IB) 解析を行った。アスタリスクは、非特異的バンドを示す。

過去の報告から、IRP1 と IRP2 のうち、実際に生体内で鉄恒常性の制御を支配するのは IRP2 だと考えられている。そこでわれわれは、IRP2 の蓄積が *Fbxl5* ノックアウトマウスの胎生早期致死の原因であるという仮説を検証するため、IRP2 の欠損が、*Fbxl5* ノックアウトマウ

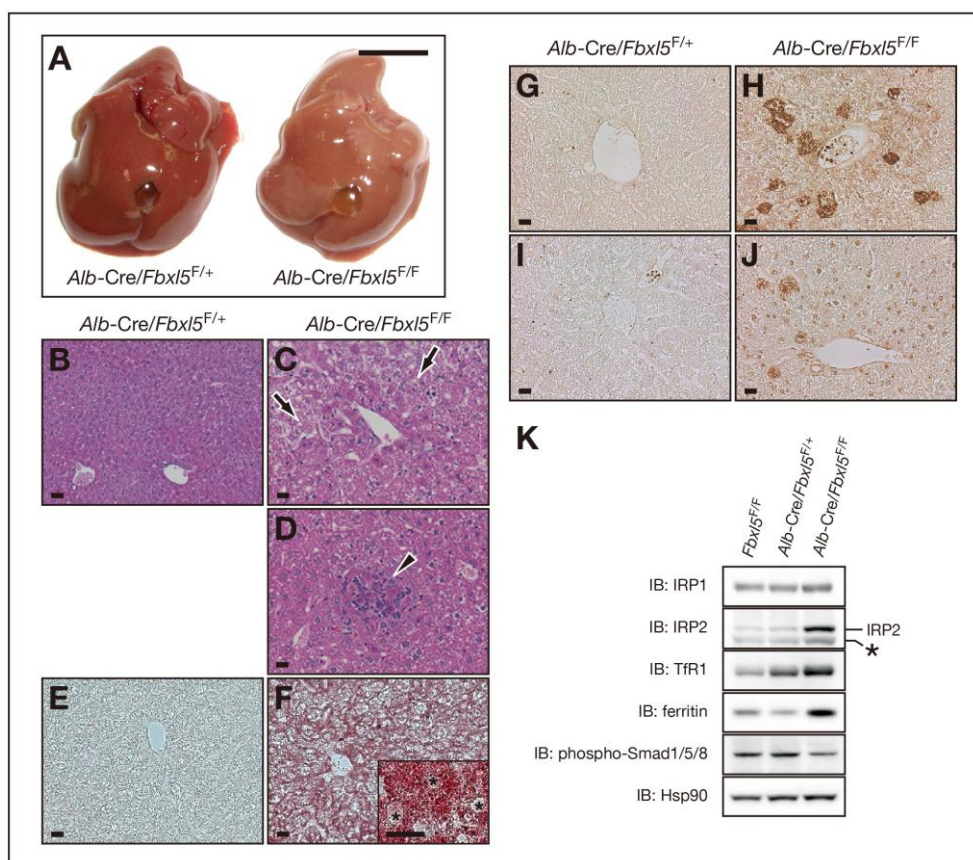
スの胎生致死性を防ぐことができるかを検討した。ほとんどの *Fbxl5*^{-/-} マウスは E8.5 に子宮内で死亡したが、*Fbxl5*^{-/-} *Irp2*^{-/-} マウスは正常に発育し、生殖可能であった(図12)。



【図12】 IRP2 欠損による *Fbxl5* ノックアウトマウスの胎生致死性の回避

5 週齢時における *Fbxl5*^{+/+} *Irp2*^{+/+} および *Fbxl5*^{-/-} *Irp2*^{-/-} 同腹子の肉眼的外見。

次に成体マウス組織における *Fbxl5* の機能を調べるために、全身性の鉄恒常性維持において中心的な役割を果たしている肝臓において、FBXL5 欠失の影響を調べた。肝臓で *Fbxl5* 遺伝子を欠損させるため、アルブミン遺伝子プロモーターの制御下で Cre トランスジーンを発現するマウス(*Alb*-Cre マウス)と *Fbxl5*^{F/F} マウスを交配した。肝臓特異的 *Fbxl5* ノックアウトマウスは生存可能であったが、これらの肝臓は色が薄くなった(図13A)。



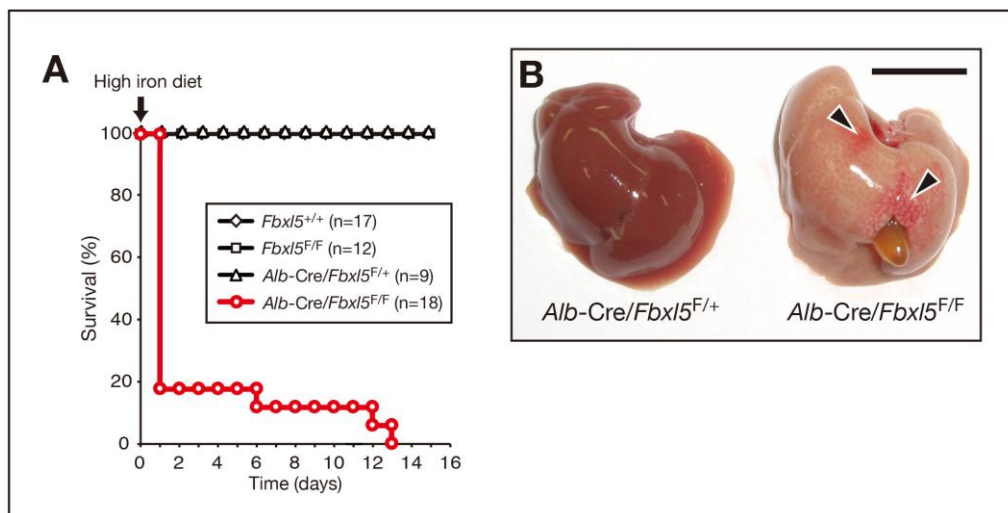
【図13】 肝細胞特異的 *Fbxl5* ノックアウトマウスは鉄過剰と脂肪肝炎を引き起こす

(A) 32 週齢の *Alb-Cre/Fbx15^{F/+}* および *Alb-Cre/Fbx15^{F/F}* マウス同腹子の肝臓の肉眼的な外観。スケールバーは 10 mm。(B から F) 16 週齢から 32 週齢における、*Alb-Cre/Fbx15^{F/F}* マウス (C、D、および F) およびコントロール *Alb-Cre/Fbx15^{F/+}* マウス同腹子 (B および E) の肝臓の組織学的解析。(B から D) ヘマトキシリン-エオシン染色。矢印は多数の微小空胞を示し、矢頭は炎症細胞の小葉浸潤を示している。(E と F) オイルレッド O 染色。(F) の挿入図は、高倍率像を示している。アスタリスクは、細胞核を示している。スケールバーは、20 μ m である。(G から J) 16 週齢から 32 週齢における、*Alb-Cre/Fbx15^{F/+}* マウス同腹子 (G と I) と比較した *Alb-Cre/Fbx15^{F/F}* マウス (H と J) の DAB-enhanced Perls 染色 (G と H) と DAB-enhanced Turnbull 染色 (I と J)。スケールバーは、20 μ m である。(K) 記載された遺伝子型をもつ 15 週齢のマウスの肝臓抽出物に対して、記載されたタンパク質に対する抗体を用いて行ったイムノブロット解析。アスタリスクは、非特異的バンドを示す。

組織学的解析では、肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスの肝臓の細胞核は中心部に残っているものの、対応する細胞質は弱くしか好酸球性に染色されず、多数の微小空胞が含まれていることが明らかになった (図13B、C)。肝臓の炎症を示すリンパ球や好中球などの炎症性細胞の小葉性浸潤もまた、肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスの肝臓で観察された (図13D)。オイルレッド O 染色では、変異マウスの肝臓において核の偏在化を伴わない複数の小さな脂肪滴の沈着を認め、ミトコンドリア機能障害に関連する肝障害の特性を示した (図13E、F)。

次にわれわれは、肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスにおける鉄代謝を調べた。DAB-enhanced Perls 染色および DAB-enhanced Turnbull 染色によって、肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスの肝細胞において 2 価鉄が蓄積していることが明らかになった (図13G-J)。イムノブロット解析では、これらのマウスの肝臓において IRP2 が蓄積していることが明らかになった (図13K)。

次にわれわれは、肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスを高鉄含有食で飼育し、鉄の過剰負荷が与える影響を調べた。鉄過剰食投与後にすべてのコントロールマウスが生き残ったのに対し、ほとんどの肝臓特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスは 1 日以内に死亡した (図14A)。*Alb-Cre/Fbx15^{F/F}* マウスでは脂肪肝の表面に大量の出血が肉眼的に認められた (図14B)。



【図14】高鉄含有食飼育下における肝細胞特異的 *Fbx15* ノックアウトマウスの致死的肝不全

(A) 高鉄含有食飼育開始後における、記載された遺伝子型をもつ 6 週齢のマウスの Kaplan-Meier 生存曲線。(B) 高鉄含有食飼育開始 1 日後における、6 週齢の *Alb-Cre/Fbx15^{F/+}* および *Alb-Cre/Fbx15^{F/F}* マウス同腹子の肝臓の肉眼的な外観。矢頭は、出

血を示している。スケールバーは 10 mm。

4. 3 ユビキチンリガーゼ Skp2 の基質である p21、p27、p57 の機能解析 (九州大学 プロテオミクス・グループ、東北大学 ジェネティクス・グループ)

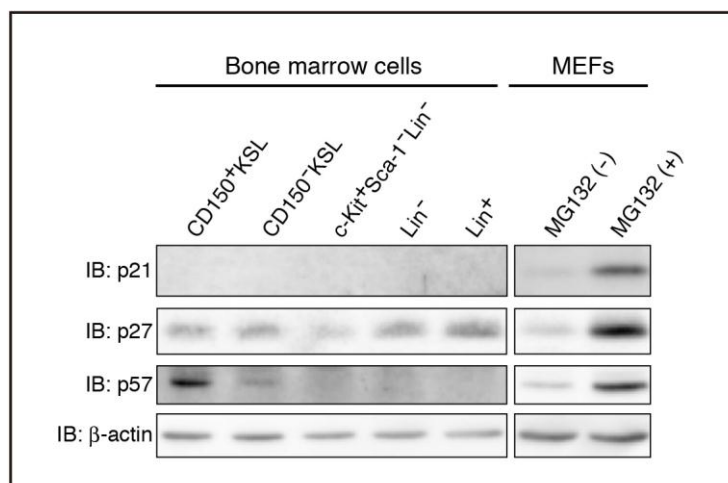
(1) 研究実施内容及び成果

血液系の細胞には、赤血球や血小板、好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、単球などといった、非常に多くの種類の細胞が存在する。これら全ての細胞は共通の造血幹細胞という細胞から作られることが知られている。この造血幹細胞はめったに増殖を行わないが、この低増殖性が造血幹細胞の維持にとってどのような意味を持つのかは未解明であった。増殖の停止を行う主要な分子として CDK 阻害分子である p21 や p27、p57 が知られているが、これまでの解析により p21 と p27 は造血幹細胞の維持には寄与していないことが知られていた。一方、造血幹細胞における p57 の機能はこれまで解析が全く行われていなかった。

造血幹細胞は、ほとんどの場合細胞周期の静止期に留まっているが、ごくたまに分裂を行うことが知られている (低増殖性)。造血幹細胞の性質として、自己を複製する能力 (自己複製能) と、血液前駆細胞を経て多くの血液細胞を産生する能力 (多分化能) を兼ね備えていることが挙げられる。造血幹細胞から生み出された血液前駆細胞は活発に細胞増殖を行い、その後様々な血液細胞へと分化していく。自己複製能と多分化能をバランス良く保つことが幹細胞の維持に重要だと考えられている。細胞が増殖を行うためには、サイクリン/CDK 複合体と呼ばれる分子群が活性化することが必須である。CDK 阻害分子と呼ばれる p21 や p27、p57 は、サイクリン/CDK 複合体の機能を阻害することによって、いろいろな細胞でその分裂を抑制していることが知られている。

これまでの解析により、p21 ノックアウトマウスや p27 ノックアウトマウスを用いて、造血幹細胞における p21 や p27 の機能解析が行われている。p21 は DNA 損傷などのストレス時に発現が上昇して造血幹細胞の維持に寄与しているが、正常時における造血幹細胞の機能には重要ではないことが示されていた。また、p27 は造血幹細胞の機能の維持には重要でないことが知られていた。一方、造血幹細胞における p57 の機能はこれまで全く解析されていなかった。それは p57 ノックアウトマウスが生直後に死亡してしまうために解析が困難であることが主な原因であった。つまり、造血幹細胞は発生期には盛んに増殖し、生後になると増殖を停止するため、造血幹細胞の細胞周期停止機構はマウスの生後に解析する必要があるのだが、生直後に死亡してしまう従来の p57 ノックアウトマウスを用いて生後の造血幹細胞の機能解析を行うことができなかったのである。

p57 は、胎生期には多くの組織において高発現しているが、生後になると大部分の細胞においてほとんど消失してしまう。そのため、生後における p57 の機能はあまり注目されてこなかった。しかし最近になって、生後においてもごくわずかの細胞群においては p57 が発現していることがわかってきた。たとえば、血液系の細胞においては、p57 の mRNA が造血幹細胞に高発現していることが明らかとなった。そこでわれわれはタンパク質レベルでも、造血幹細胞における CDK 阻害分子の発現を確認してみたところ、やはり p57 は造血幹細胞において高発現していた (図15)。一方、p21 はどの細胞分画においても発現を確認することができず、p27 はどの細胞分画においても発現していた。これらの結果は、p57 が造血幹細胞の静止期の維持に重要である可能性を強く示唆している。

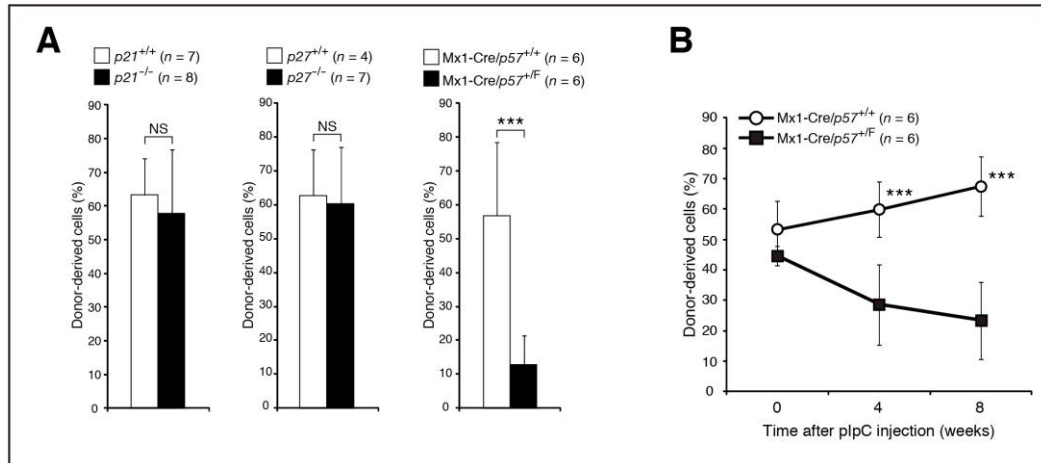


【図15】 骨髄幹細胞における p57 の特異的発現

分化段階に応じて分画した骨髄単核球より調製した細胞抽出液をイムノブロット法にて解析した。p21、p27、p57 の 3 種類の CDK インヒビターの量を示す。対照としてプロテアソーム阻害剤 MG132 で処理した胎仔線維芽細胞(MEF)から調製した細胞抽出液を示した。p21 は骨髄単核球ではほとんど検出限界以下であるのに対し、p27 は細胞の分化段階では特に変動しなかった。しかし p57 は骨髄幹細胞分画にのみ強く発現していることが明らかとなった。

そこで、われわれは生後のマウス造血幹細胞における p57 の機能解析を行うことにした。p57 ノックアウトマウスは生直後に死亡してしまうため、われわれは血液系特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスを作製した。コントロールとして p21 ノックアウトマウスや p27 ノックアウトマウスも一緒に解析を行った。まずこれらの変異マウスで造血幹細胞の増殖能に変化がないか実験を行った。以前の報告通り、造血幹細胞から p21 や p27 が欠損しても、造血幹細胞の増殖の割合に変化は無かったが、p57 が欠損するとその増殖が異常に亢進することがわかった。しかし、この異常な増殖亢進にも関わらず、時間の経過とともに造血幹細胞の数が減少していった。これは造血幹細胞において p57 がなくなると、増殖性が亢進することによって自己を複製せずに血液前駆細胞への分化の方向へ傾いてしまい、その結果としてやがて造血幹細胞が枯渇していくということが考えられる。

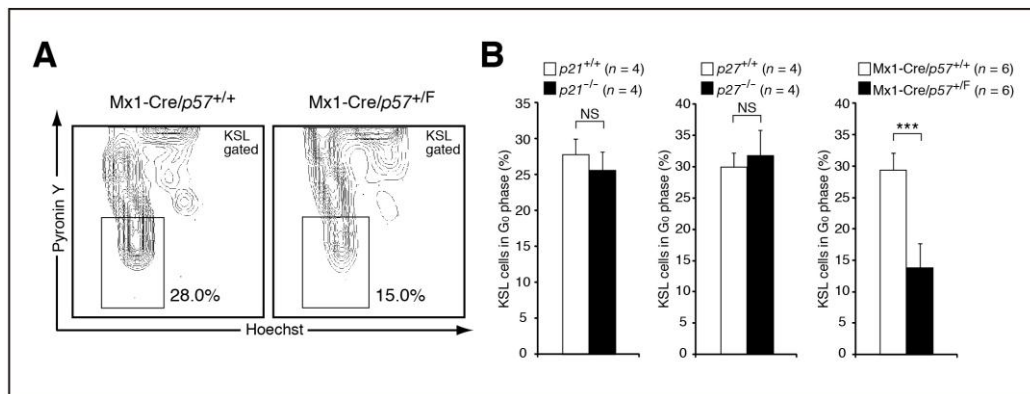
次に造血幹細胞が血液細胞を産生する能力を生体内で測定するために、骨髄移植実験を行った。p21 や p27、p57 を欠損したマウスから骨髄細胞を取り出し、放射線を当てた別のマウスに移植を行った。移植された造血幹細胞は、マウスの体内で自己を複製することにより造血幹細胞を十分に増やしたあと、血液細胞を産生する。p21 や p27 を欠損した造血幹細胞は正常の造血幹細胞と同程度に血液細胞を産生することができた。一方、p57 を欠損した造血幹細胞は、正常の造血幹細胞の 1/10 程度しか血液細胞を産生できなかった(図16A)。この異常が本当に幹細胞性の異常であることを調べるため、Mx1-Cre/p57^{fl} マウスの骨髄移植後に pIpC によって p57 を欠損させる実験も行った。やはり p57 を欠失した造血幹細胞は、自己を複製せずに血液前駆細胞を異常に産生してしまうため、造血幹細胞を増やすことができずに枯渇してしまうことが判明した(図16B)。その結果、最終的に産生できる血液細胞の量が非常に少なくなっていた。



【図16】 骨髄特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスにおける幹細胞性の喪失

(A) p21 ノックアウトマウス、p27 ノックアウトマウス、p57 コンディショナルノックアウトマウスより骨髄幹細胞を取得し、致死量の放射線を照射したレシピエントマウスに 4×10^5 個の細胞を移植した。16 週間後に移植されたマウスにおけるドナー細胞の割合を示した。p21 や p27 の欠失ではほとんど野生型と変わらないが、p57 の欠失では移植された細胞の増殖が大きく障害されていた。(B) Mx1-Cre/p57^{F/F} マウスの骨髄細胞 (4×10^5 個) をレシピエントマウスに移植後、4 週間後に plpC を注射して p57 遺伝子を欠失させた。その後 4~8 週で p57 コンディショナルノックアウトマウスでは明らかに細胞の増加が障害されていた。

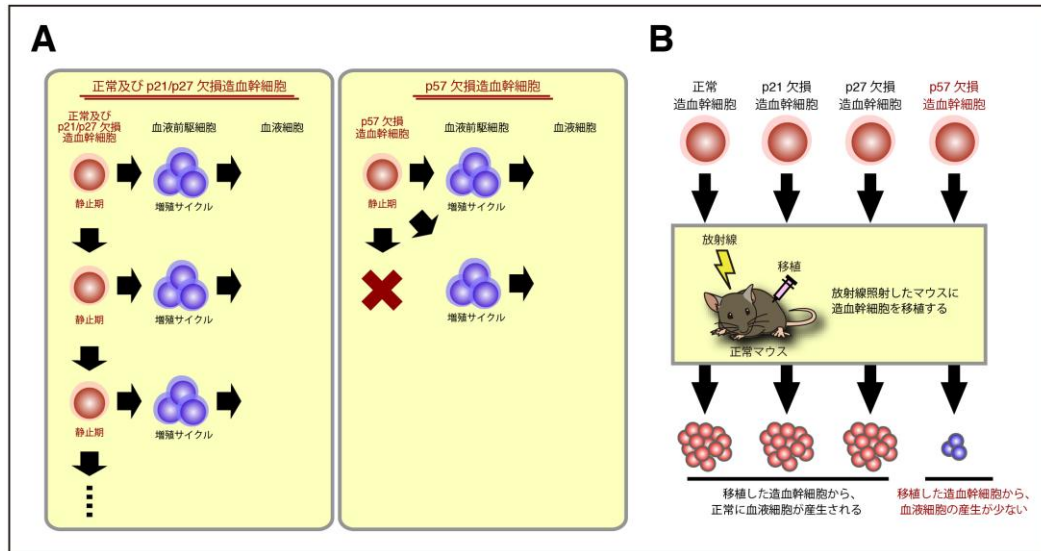
われわれは p57 の欠失による細胞周期への影響を調べるために、骨髄幹細胞を Hoechst33342 (DNA を蛍光染色) と Pylonin Y (RNA を蛍光染色) にて染色し、G0 期の割合を測定した。その結果、p21 や p27 の欠失ではほとんど影響はなかったが、p57 コンディショナルノックアウトマウスでは G0 期の細胞の割合が大きく減少していた。この結果は p57 による G0 期維持が骨髄幹細胞における幹細胞性維持に必須であることを示唆している。



【図17】 骨髄特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスにおける G0 期維持の障害

(A) コントロールマウスと p57 コンディショナルノックアウトマウスより骨髄幹細胞を取得し、Hoechst33342 と Pylonin Y にて染色後、FACS で解析した。(B) p21 ノックアウトマウスや p27 ノックアウトマウスでは G0 期の割合はほとんど変化していないが、p57 コンディショナルノックアウトマウスでは G0 期の細胞の割合が減少していた。

これらの結果より、骨髄幹細胞においては p21 や p27 よりも p57 の機能が重要であることが明らかとなった。p57 の欠失は骨髄幹細胞が G0 期にとどまるのを抑制し、細胞周期への再進入を促進するために、その幹細胞性が喪失してしまうと考えられる(図18)。



【図18】 骨髄特異的 p57 コンディショナルノックアウトマウスにおける異常のまとめ

(A) 正常マウスや p21 ノックアウトマウス、p27 ノックアウトマウスでは、骨髄幹細胞における細胞周期の静止期が一定の割合で維持されているが、p57 コンディショナルノックアウトマウスでは静止期が抑制されて全て増殖サイクルに入ってしまうので、恒常的な造血が維持できない。(B) その結果、p57 欠損造血幹細胞は移植後の骨髄再構築能が低下してしまう。

われわれは p57 遺伝子を p27 で置き換えたマウス(p57p27 ノックインマウス)において骨髄幹細胞の異常を検討したが、p57 コンディショナルノックアウトマウスで見られたような異常は検出できなかった。このことは、p57 に存在する特異的な機能が重要であるというよりも、p27 と p57 に共通する機能の発現パターンが重要であることを示している。

(2)研究成果の今後期待される展開

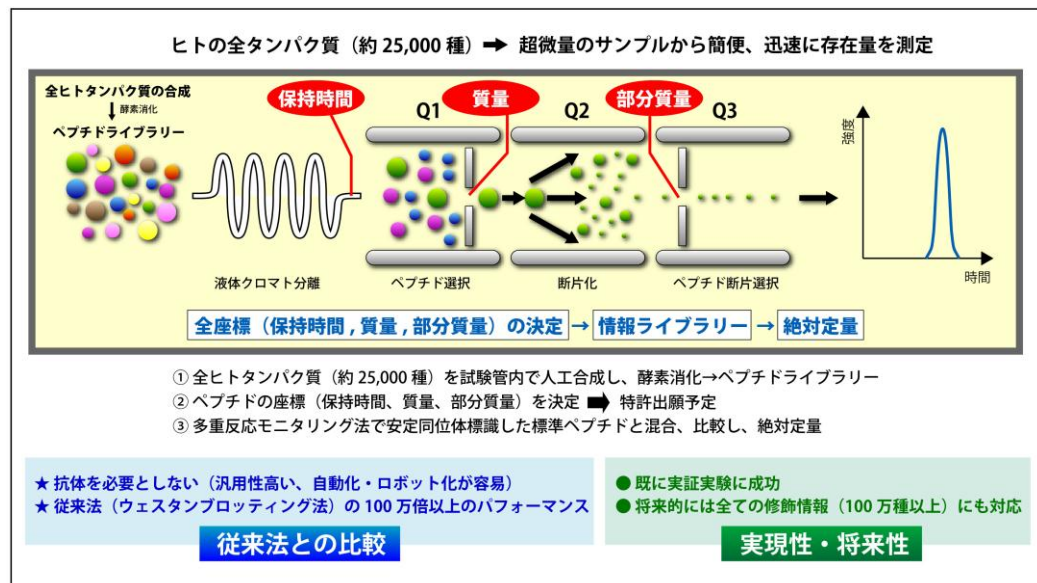
今回の結果より、p57 は造血幹細胞に高発現しており、細胞増殖のブレーキとして造血幹細胞の増殖スピードが速くなりすぎないようにする機能分子であることがわかった。p57 が欠損した造血幹細胞では自己複製よりも分化へ傾いてしまい、一過性の増殖の後に最終的に造血幹細胞が枯渇するということが分かった。造血幹細胞の維持メカニズムにはまだまだ不明な点が多いが、将来的にその制御の全体像を明らかにすることにより、人為的なコントロールによって試験管内での造血幹細胞の大量複製が可能となれば、輸血や白血病治療などへの応用が広がることが期待される。

4. 4 リバース・プロテオミクス(RPX)技術の開発(九州大学 プロテオミクス・グループ)

(1)研究実施内容及び成果

前述のように、リバース・プロテオミクス(RPX)法について、まずわれわれは、二次元電気泳動ベースのディファレンシャル・プロテオミクス技術である 2D-DIGE (Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis) 法を RPX 法の第一候補として開発を進めていたが、その網羅性の低さによって開発を断念し、従来のディスカバリー・プロテオミクスからターゲット・プロテオミクスへと大きな方向転換を行い、その基盤技術である Multiple Reaction Monitoring (MRM) 法を基盤に、より高度な技術開発に取り組んだ。MRM 法では標的ペプチドの MS/MS 情報を用いて MRM-transition を前もって設定(事前情報の取得)する必要があるため、標品ペプチドを大規模に(プロテオームワイドに)入手することができれば、それらを用いて事前情報ライブラリーを構築することが可能である。これが実現すれば、あらゆるタンパク質の大規模な絶対定量解析が可能となるはずである。われわれはこの手法を

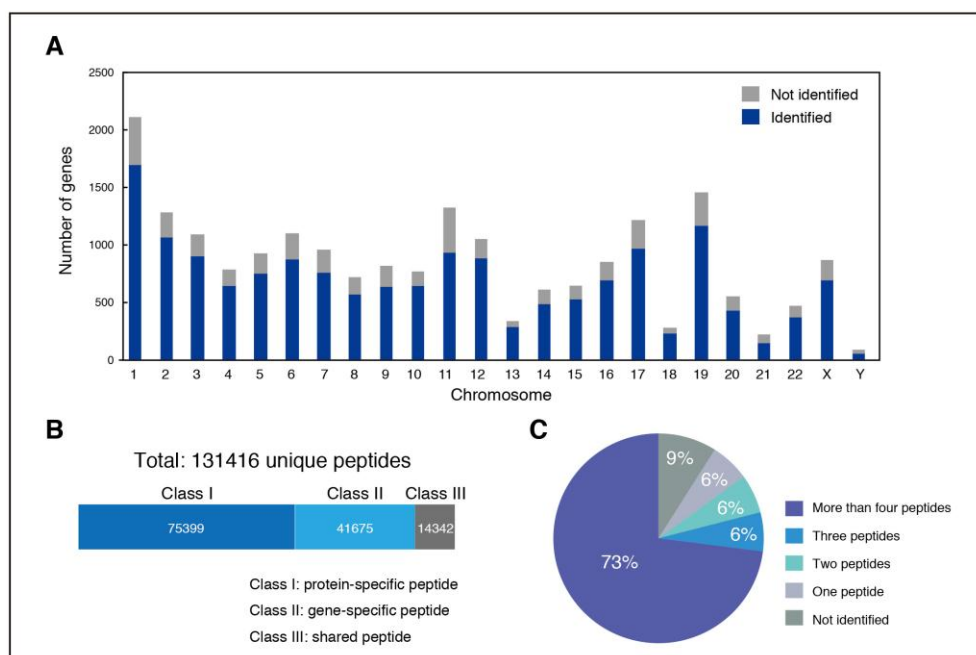
Information-based Multiple Reaction Monitoring (iMRM 法)と名づけ、その実現に向けて要素技術の開発を行ってきた(図19)。



【図19】 iMRM 法の原理と特徴

iMRM 法では全てのヒトリコンビナントタンパク質から得たペプチドの座標 (保持時間、質量、部分質量) を事前情報取得し、MRM 法で高速に絶対定量を行うシステムである。

iMRM 法の要諦は、全てのタンパク質の標品を入手できるかどうかにかかっている。そこでわれわれは (独) 産業技術総合研究所の五島直樹博士が開発したヒト全タンパク質試験管内合成システムに着目した。これは全行程をロボット化することによって、ヒト完全長 cDNA ライブラリー (25,000 クローン) から約 1 ヶ月でコムギ胚芽抽出液を用いて全てのヒトリコンビナントタンパク質を人工合成する方法である。

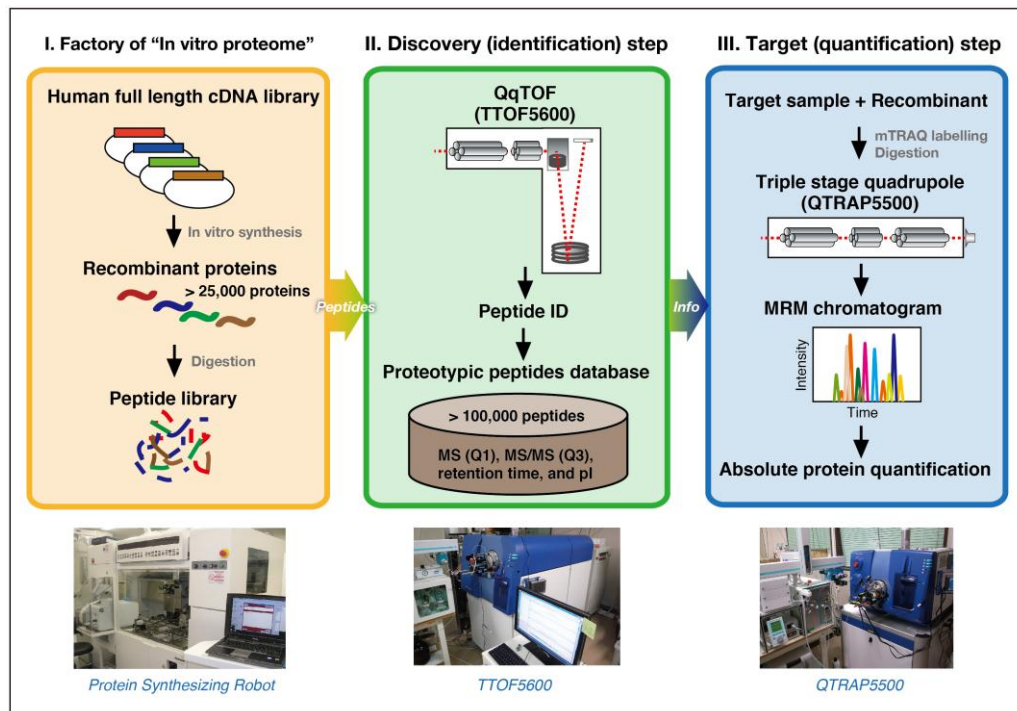


【図20】 iMRM 法に用いるためのプローブペプチドデータベース

上記のように全てのヒトリコンビナントタンパク質を消化測定し、MRM に使用できるペプチ

ドを選択した。(A)クロモゾーム毎のカバー率。現在、全遺伝子の 85%程度をカバーしている。(B)ペプチドの特異性。Class I はタンパク質のアイソフォームを区別できる特異性の高いペプチドで、Class II はタンパク質特異的なペプチド、Class III は別の類似タンパク質にも反応しうるペプチドを示す。(C)タンパク質当たりのプローブペプチド数。4 分の 3 近くで 1 タンパク質当たり 4 つ以上のプローブペプチドが既に得られている。

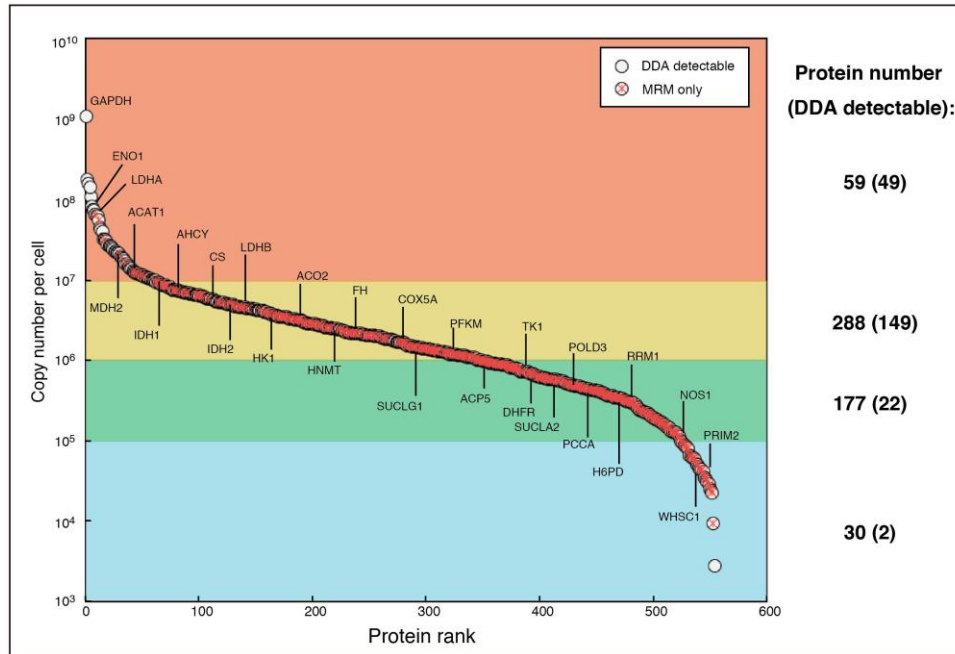
われわれは五島博士の協力を得て、特殊な精製用タグを付けたヒトリコンビナントタンパク質を入手し、全てのヒタンパク質に対して MS/MS 情報を取得し、事前情報データベースを構築した(図20)。現時点で 18,000 タンパク質 (13 万種類以上のペプチド) に対して情報取得を完了しており、これらを用いて MRM 法による絶対定量が可能になっている。iMRM 法の全体的なワークフローをまとめた(図21)。



【図21】iMRM 法の実際のワークフロー

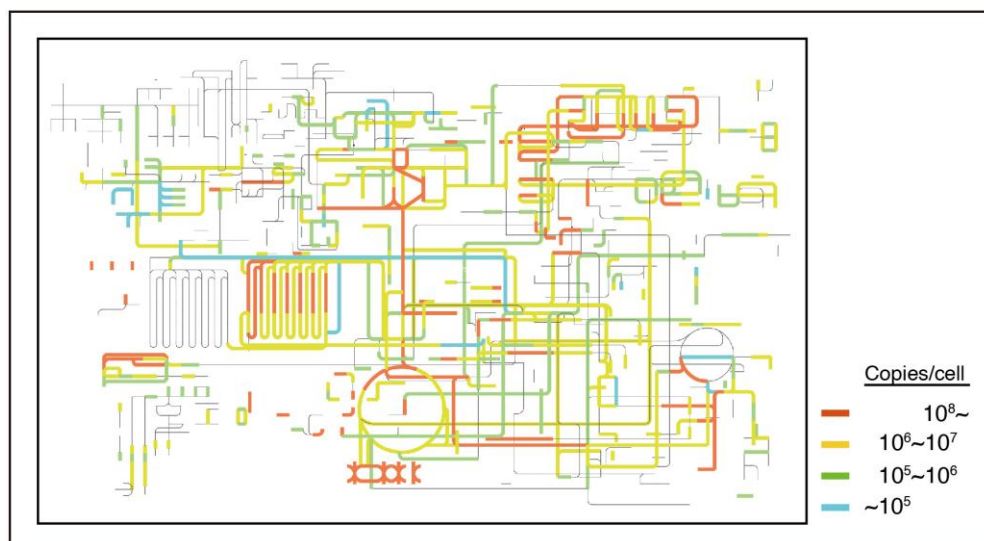
iMRM 法は3つのステップから構成されている。第一ステップでは、全てのヒトリコンビナントタンパク質を作製し、ペプチドライブラリーを得る。第二ステップではこのペプチドを全て LC-MS/MS 解析し、プローブペプチドデータベースを構築する。第三ステップでは、このデータベース情報に基づき、MRM 法にて大規模にタンパク質の絶対定量を行う。

本当に iMRM 法がシステムレベルでのタンパク質定量に有効かどうかを判定するため、われわれはヒト代謝システム(約 1200 程度のタンパク質から構成される)の絶対定量を試みることにした。この中でペプチド座標情報が事前に得られているものは約 85%であった。これらについてヒト正常線維芽細胞を用いて絶対定量を行った(図22)。その結果、1 細胞当たり 10^3 分子以上発現しているものは約 600 タンパク質あった。ちなみに最大値を与えたのは、解糖系の酵素である GAPDH (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) であり、その存在量は約 10^9 分子/細胞であった。つまり iMRM 法では、 $10^3 \sim 10^9$ 分子/細胞までの 6 桁に及ぶ広範なダイナミックレンジを有することがわかる(ちなみに従来のウェスタンブロッティング法は 2~3 桁である)。



【図22】 iMRM 法によるヒト代謝酵素の絶対定量におけるタンパク質の存在量の分布
iMRM 法によりヒト正常線維芽細胞において代謝酵素群の絶対定量を行った。これらのタンパク質は $10^3 \sim 10^9$ 分子/細胞の範囲に分布し、最大量は解糖系の GAPDH であった。

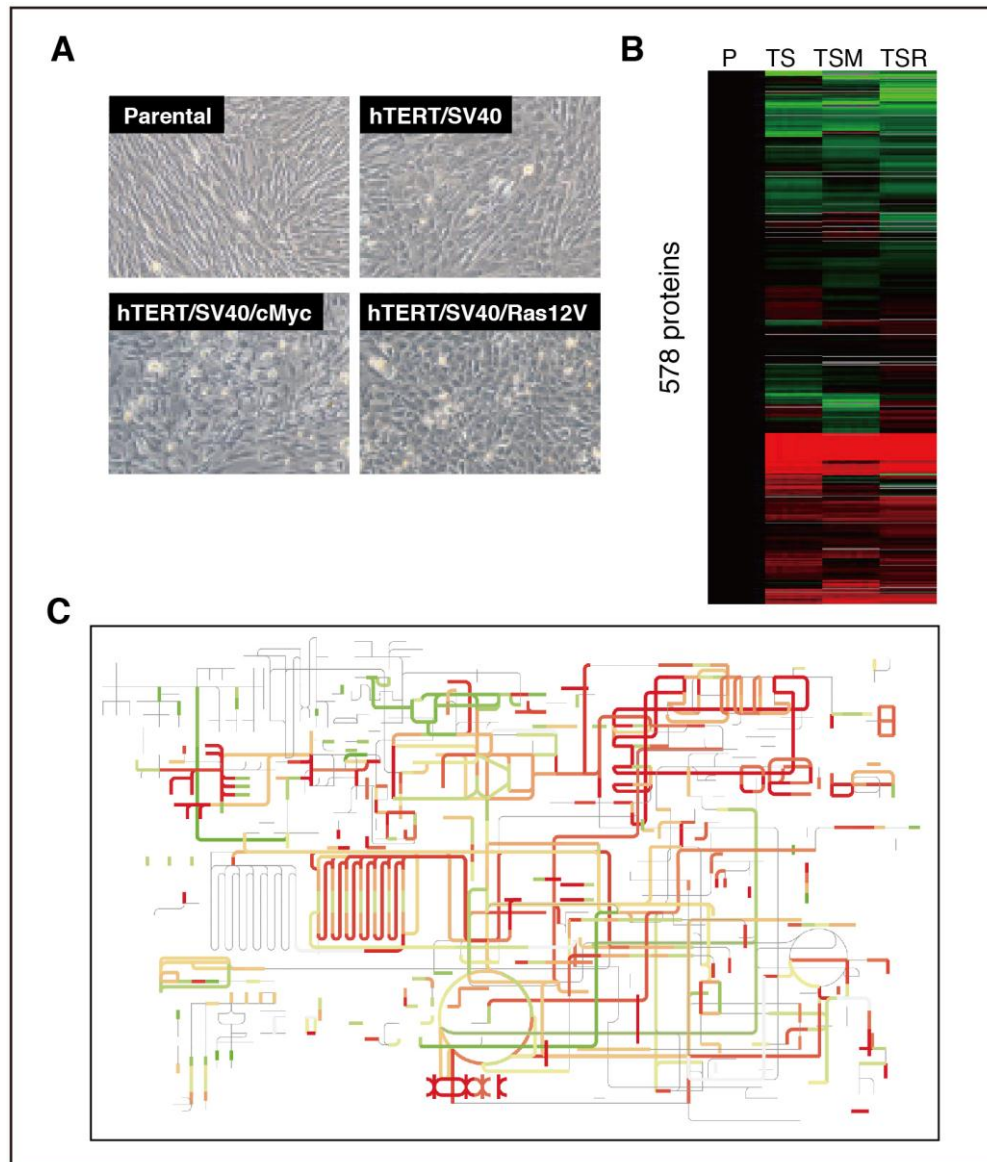
この絶対定量結果を代謝酵素マップに重ねると下記のようなになる(図23)。



【図23】 ヒト代謝マップにおける代謝酵素の量的表示

iMRM 法によりヒト正常線維芽細胞において代謝酵素群の絶対定量を行った結果をヒト代謝マップにオーバーレイした。

現在、癌における代謝シフトが大きな関心を呼んでいる。特に癌細胞においては高酸素分圧下でも嫌氣的な解糖系優位な代謝経路を好む傾向がある(Warburg 効果と呼ぶ)。この癌における代謝シフトの本態を解明するため、ヒト正常線維芽細胞に hTERT、SV40、c-Myc、活性化 Ras を導入してトランスフォームし、その代謝シフトを測定すると共に、全代謝酵素の絶対定量を行った(図24)。



【図24】 正常ヒト細胞とトランスフォーム細胞における代謝酵素量の比較

(A)ヒト正常線維芽細胞に hTERT、SV40、c-Myc、活性化 Ras を導入してトランスフォームした。(B)約 600 タンパク質について絶対定量を行い、その変動を示した。(C)変動量を代謝マップにオーバーレイしたもの。

この解析によって、システムとして癌でどのような代謝系の変化が起こっているかが明らかとなった。

(2)研究成果の今後期待される展開

iMRM 法が完成すれば、全てのタンパク質の絶対定量が可能になるため、単に RPX 法に应用できるだけでなく、現代科学の大きな課題である「ヒトプロテオーム解読」が実現できる可能性が高い。もちろん数万のタンパク質情報を扱うのは実験技術的にも情報生物学的にも容易ではなく、数々の障壁が存在するが、われわれは現在そのほとんどを解決し、後は現実的にヒトプロテオームを測定するだけの状況にある。ヒトプロテオーム解読がなされれば、その意義はヒトゲノム解読に匹敵するインパクトを世界に与え、生物学・医学に対する膨大な情報を提供することは必至である。

§ 5 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内(和文)誌 0 件、国際(欧文)誌 125 件)

1. Uchida, T., Iwashita, N., Ohara-Imaizumi, M., Ogihara, T., Nagai, S., Choi, J.B., Tamura, Y., Tada, N., Kawamori, R., Nakayama, K.I., Nagamatsu, S., Watada, H.: Protein kinase Cdelta plays a non-redundant role in insulin secretion in pancreatic beta cells.
J. Biol. Chem., 282: 2707-2716 (2007).
2. Sakai, T., Sakaue, H., Nakamura, T., Okada, M., Matsuki, Y., Watanabe, E., Hiramatsu, R., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Kasuga, M.: Skp2 controls adipocyte proliferation during the development of obesity.
J. Biol. Chem., 282: 2038-2046 (2007).
3. Itoh, Y., Masuyama, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Gotoh, Y.: The cyclin-dependent kinase inhibitors p57 and p27 regulate neuronal migration in the developing mouse neocortex.
J. Biol. Chem., 282: 390-396 (2007).
4. Yanagawa, M., Tsukuba, T., Nishioku, T., Okamoto, Y., Okamoto, K., Takii, R., Terada, Y., Nakayama, K.I., Kadowaki, T., Yamamoto, K.: Cathepsin E deficiency induces a novel form of lysosomal storage disorder showing the accumulation of lysosomal membrane sialoglycoproteins and the elevation of lysosomal pH in macrophages.
J. Biol. Chem., 282: 1851-1862 (2007).
5. Tu, X., Joeng, K.S., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Rajagopal, J., Carroll, T.J., McMahon, A.P., Long, F.: Noncanonical Wnt signaling through G protein-linked PKCdelta activation promotes bone formation.
Dev. Cell, 12: 113-127 (2007).
6. Shukla, A., Lounsbury, K.M., Barrett, T.F., Gell, J., Rincon, M., Butnor, K.J., Taatjes, D.J., Davis, G.S., Vacek, P., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Steele, C., Mossman, B.T.: Asbestos-induced peribronchiolar cell proliferation and cytokine production are attenuated in lungs of protein kinase C- δ knockout mice.
Am. J. Pathol., 170: 140-151 (2007).
7. Mizokami, A., Kanematsu, T., Ishibashi, H., Yamaguchi, T., Tanida, I., Takenaka, K., Nakayama, K.I., Fukami, K., Takenawa, T., Kominami, E., Moss, S.J., Yamamoto, T., Nabekura, J., Hirata, M.: Phospholipase C-related inactive protein is involved in trafficking of gamma2 subunit-containing GABA(A) receptors to the cell surface.
J. Neurosci., 27: 1692-1701 (2007).
8. Moller, C., Karlberg, M., Abrink, M., Nakayama, K.I., Motoyama, N., Nilsson, G.: Bcl-2 and Bcl-XL are indispensable for the late phase of mast cell development from mouse embryonic stem cells.
Exp. Hematol., 35: 385-393 (2007).
9. Liu, Z., Liu, X., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Ye, K.: Protein kinase C-delta phosphorylates Ebp1 and prevents its proteolytic degradation, enhancing cell survival.
J. Neurochem., 100: 1278-1288 (2007).
10. Li, W., Yamada, H., Yajima, T., Nakagawa, R., Shimoda, K., Nakayama, K.I., Yoshikai, Y.: Tyk2 signaling in host environment plays an important role in contraction of antigen-specific CD8⁺ T cells following a microbial infection.
J. Immunol., 178: 4482-4488 (2007).
11. Miyamoto, K., Araki, K.Y., Naka, K., Arai, F., Takubo, K., Yamazaki, S., Matsuoka, S.,

Miyamoto, T., Ito, K., Ohmura, M., Chen, C., Hosokawa, K., Nakauchi, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Harada, M., Motoyama, N., Suda, T., Hirao, A.: Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool.

Cell Stem Cell, 1: 101-112 (2007).

12. Cooke, P.S., Holsberger, D.R., Cimafranca, M.A., Meling, D.D., Beals, C.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Kiyokawa, H.: The F Box protein S phase kinase-associated protein 2 regulates adipose mass and adipocyte number in vivo.

Obesity, 15: 1400-1408 (2007).

13. Nakagawa, T., Shirane, M., Iemura, S.I., Natsume, T., Nakayama, K.I.: Anchoring of the 26S proteasome to the organellar membrane by FKBP38.

Genes Cells, 12: 709-719 (2007).

14. Susaki, E., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Cyclin D2 translocates p27 out of the nucleus and promotes its degradation at the G0-G1 transition.

Mol. Cell. Biol., 27: 4626-4640 (2007).

15. Ehre, C., Zhu, Y., Abdullah, L.H., Olsen, J.C., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Messing, R.O., Davis, C.W.: nPKC{epsilon}, a P2Y2-R downstream effector in regulated mucin secretion from airway goblet cells.

Am. J. Physiol.-Cell Physiol., 293: 1445-1454 (2007).

16. Suzuki, S., Fukasawa, H., Kitagawa, K., Uchida, C., Hattori, T., Isobe, T., Oda, T., Misaki, T., Ohashi, N., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Hishida, A., Yamamoto, T., Kitagawa, M.: Renal damage in obstructive nephropathy is decreased in Skp2-deficient mice.

Am. J. Pathol., 171: 473-483 (2007).

17. Zhong, L., Georgia, S., Tschen, S.I., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Bhushan, A.: Essential role of Skp2-mediated p27 degradation in growth and adaptive expansion of pancreatic beta cells.

J. Clin. Invest., 117: 2869-2876 (2007).

18. Wakeyama, H., Akiyama, T., Takahashi, K., Amano, H., Kadono, Y., Nakamura, M., Oshima, Y., Itabe, H., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Nakamura, K., Tanaka, S.: Negative feedback loop in the bim-caspase-3 axis regulating apoptosis and activity of osteoclasts.

J. Bone. Miner. Res., 22: 1631-1639 (2007).

19. Matsuda, T., Matsumoto, A., Uchida, M., Kanaly, R.A., Misaki, K., Shibutani, S., Kawamoto, T., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Tomokuni, K., Ichiba, M.: Increased formation of hepatic N2-ethylidene-2'-deoxyguanosine DNA adducts in aldehyde dehydrogenase 2-knockout mice treated with ethanol.

Carcinogenesis, 28: 2363-2366 (2007).

20. Onoyama, I., Tsunematsu, R., Matsumoto, A., Kimura, T., de Alboran, I.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Conditional inactivation of Fbxw7 impairs cell-cycle exit during T cell differentiation and results in lymphomatogenesis.

J. Exp. Med., 204: 2875-2888 (2007).

21. Kawakubo, T., Okamoto, K., Iwata, J., Shin, M., Okamoto, Y., Yasukochi, A., Nakayama, K.I., Kadowaki, T., Tsukuba, T., Yamamoto, K.: Cathepsin E prevents tumor growth and metastasis by catalyzing the proteolytic release of soluble TRAIL from tumor cell surface.

Cancer Res., 67: 10869-10878 (2007).

22. Ueyama, C., Akashiba, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Nishiyama, N., Matsuki, N.: Ablation of p27 enhance kainate-induced seizure and hippocampal degeneration.

Neuroreport, 18: 1781-1785 (2007).

23. Gallegos, J.R., Litersky, J., Lee, H., Sun, Y., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Lu, H.: SCF TrCP1 activates and ubiquitylates TAp63gamma.

J. Biol. Chem., 283: 66-75 (2008).

24. Matsuoka, S., Oike, Y., Onoyama, I., Iwama, A., Arai, F., Takubo, K., Mashimo, Y., Oguro, H., Nitta, E., Ito, K., Miyamoto, K., Yoshiwara, H., Hosokawa, K., Nakamura, Y., Gomei, Y., Iwasaki, H., Hayashi, Y., Matsuzaki, Y., Nakayama, K., Ikeda, Y., Hata, A., Chiba, S., Nakayama, K.I., Suda, T.: Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL.

Genes Dev., 22: 986-991 (2008).

25. Inoue, S., Kinoshita, T., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Doi, M., Shimazaki, K.: Blue light-induced autophosphorylation of phototropin is a primary step for signaling.

Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 105: 5626-5631 (2008).

26. Mukai, A., Mizuno, E., Kobayashi, K., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kitamura, N., Komada, M.: Dynamic regulation of ubiquitylation and deubiquitylation at the central spindle during cytokinesis.

J. Cell Sci., 121: 1325-1333 (2008).

27. Song, M.S., Song, S.J., Kim, S.J., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Lim, D.S.: Skp2 regulates the antiproliferative function of the tumor suppressor RASSF1A via ubiquitin-mediated degradation at the G1-S transition.

Oncogene, 27: 3176-3185 (2008).

28. Shigematsu, N., Fukuda, T., Yamamoto, T., Nishioku, T., Yamaguchi, T., Himeno, M., Nakayama, K.I., Tsukuba, T., Kadowaki, T., Okamoto, K., Higuchi, S., Yamamoto, K.: Association of cathepsin E deficiency with the increased territorial aggressive response of mice.

J. Neurochem., 105: 1394-1404 (2008).

29. Chen, Q., Xie, W., Kuhn, D.J., Voorhees, P.M., Lopez-Girona, A., Mendy, D., Corral, L.G., Krenitsky, V.P., Xu, W., Moutouh-de Parseval, L., Webb, D.R., Mercurio, F., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Orłowski, R.Z.: Targeting the p27 E3 ligase SCFSkp2 results in p27- and Skp2-mediated cell-cycle arrest and activation of autophagy.

Blood, 111: 4690-4699 (2008).

30. Shirane, M., Ogawa, M., Motoyama, J., Nakayama, K.I.: Regulation of apoptosis and neurite extension by FKBP38 is required for neural tube formation in the mouse.

Genes Cells, 13: 635-651 (2008).

31. Agarwal, A., Bumm, T.G., Corbin, A.S., O'Hare, T., Loriaux, M., VanDyke, J., Willis, S.G., Deininger, J., Nakayama, K.I., Druker, B.J., Deininger, M.W.: Absence of SKP2 expression attenuates BCR-ABL-induced myeloproliferative disease.

Blood, 112: 1960-1970 (2008).

32. Ishikawa, Y., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Notch-dependent cell cycle arrest and apoptosis in mouse embryonic fibroblasts lacking Fbxw7.

Oncogene, 27: 6164-6174 (2008).

33. Sakae, N., Yamasaki, N., Kitaichi, K., Fukuda, T., Yamada, M., Yoshikawa, H., Hiranita, T., Tatsumi, Y., Kira, J., Yamamoto, T., Miyakawa, T., Nakayama, K.I.: Mice lacking the schizophrenia-associated protein FEZ1 manifest hyperactivity and enhanced responsiveness to psychostimulants.

Hum. Mol. Genet., 17: 3191-3203 (2008).

34. Matsumoto, A., Kawamoto, T., Mutoh, F., Isse, T., Oyama, T., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Ichiba, M.: Effects of 5-week ethanol feeding on the liver of aldehyde dehydrogenase 2 knockout mice.

Pharmacogenet. Genomics, 18: 847-852 (2008).

35. Kanei-Ishii, C., Nomura, T., Takagi, T., Watanabe, N., Nakayama, K.I., Ishii, S.: Fbxw7 acts as an E3 ubiquitin ligase that targets c-Myb for nemo-like kinase (NLK)-induced degradation.

J. Biol. Chem., 283: 30540-30548 (2008).

36. Ohsaki, K., Oishi, K., Kozono, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Ishida, N.: The role of {beta}-TrCP1 and {beta}-TrCP2 in circadian rhythm generation by mediating degradation of clock protein PER2.

J. Biochem., 144: 609-618 (2008).

37. Miranda-Carboni, G.A., Krum, S.A., Yee, K., Nava, M., Deng, Q.E., Pervin, S., Collado-Hidalgo, A., Galic, Z., Zack, J.A., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Lane, T.F.: A functional link between Wnt signaling and SKP2-independent p27 turnover in mammary tumors.

Genes Dev., 22: 3121-3134 (2008).

38. Tamamori-Adachi, M., Takagi, H., Hashimoto, K., Goto, K., Hidaka, T., Koshimizu, U., Yamada, K., Goto, I., Maejima, Y., Isobe, M., Nakayama, K.I., Inomata, N., Kitajima, S.: Cardiomyocyte proliferation and protection against post-myocardial infarction heart failure by cyclin D1 and Skp2 ubiquitin ligase.

Cardiovasc. Res., 80: 181-190 (2008).

39. Lu, Y., Adegoke, O.A., Nepveu, A., Nakayama, K.I., Bedard, N., Cheng, D., Peng, J., Wing, S.S.: USP19 deubiquitinating enzyme supports cell proliferation by stabilizing KPC1, a ubiquitin ligase for p27Kip1.

Mol. Cell. Biol., 29: 547-558 (2009).

40. Minhajuddin, M., Bijli, K.M., Fazal, F., Sassano, A., Nakayama, K.I., Hay, N., Platanias, L.C., Rahman, A.: Protein kinase C- δ and phosphatidylinositol 3-kinase/Akt activate mammalian target of rapamycin to modulate NF- κ B activation and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in endothelial cells.

J. Biol. Chem., 284: 4052-4061 (2009).

41. Nishiyama, M., Oshikawa, K., Tsukada, Y., Nakagawa, T., Iemura, S., Natsume, T., Fan, Y., Kikuchi, A., Skoultschi, A.I., Nakayama, K.I.: CHD8 suppresses p53-mediated apoptosis through histone H1 recruitment during early embryogenesis.

Nature Cell Biol., 11: 172-182 (2009).

42. Susaki, E., Nakayama, K., Yamasaki, L., Nakayama, K.I.: Common and specific roles of the related CDK inhibitors p27 and p57 revealed by a knock-in mouse model.

Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 106: 5192-5197 (2009).

43. Endo, A., Matsumoto, M., Inada, T., Yamamoto, A., Nakayama, K.I., Kitamura, N., Komada, M.: Nucleolar structure and function are regulated by the deubiquitylating enzyme USP36.

J. Cell Sci., 122: 678-686 (2009).

44. Lin, H.K., Wang, G., Chen, Z., Teruya-Feldstein, J., Liu, Y., Chan, C.H., Yang, W.L., Erdjument-Bromage, H., Nakayama, K.I., Nimer, S., Tempst, P., Pandolfi, P.P.: Phosphorylation-dependent regulation of cytosolic localization and oncogenic function of Skp2 by Akt/PKB.

Nature Cell Biol., 11: 420-432 (2009).

45. Tsukuba, T., Yanagawa, M., Okamoto, K., Okamoto, Y., Yasuda, Y., Nakayama, K.I., Kadowaki, T., Yamamoto, K.: Impaired chemotaxis and cell adhesion due to decrease in several cell-surface receptors in cathepsin E-deficient macrophages.

J. Biochem., 145: 565-573 (2009).

46. Saita, S., Shirane, M., Natume, T., Iemura, S., Nakayama, K.I.: Promotion of neurite extension by protrudin requires its interaction with vesicle-associated membrane protein-associated protein.

J. Biol. Chem., 284: 13766-13777 (2009).

47. Yokobori, T., Mimori, K., Iwatsuki, M., Ishii, H., Onoyama, I., Fukagawa, T., Kuwano, H., Nakayama, K.I., Mori, M.: p53-Altered FBXW7 expression determines poor prognosis in gastric cancer cases.

Cancer Res., 69: 3788-3794 (2009).

48. Mitra, P., Ghule, P.N., van der Deen, M., Medina, R., Xie, R.L., Holmes, W.F., Ye, X., Nakayama, K.I., Harper, J.W., Stein, J.L., Stein, G.S., van Wijnen, A.J.: CDK inhibitors selectively diminish cell cycle controlled activation of the histone H4 gene promoter by p220NPAT and HiNF-P.

J. Cell Physiol., 219: 438-448 (2009).

49. Kimura, T., Sakai, M., Tabu, K., Wang, L., Tsunematsu, R., Tsuda, M., Sawa, H., Nagashima, K., Nishihara, H., Hatakeyama, S., Nakayama, K., Ladanyi, M., Tanaka, S., Nakayama, K.I.: Human synovial sarcoma proto-oncogene Syt is essential for early embryonic development through the regulation of cell migration.

Lab. Invest., 89: 645-656 (2009).

50. Matsumoto, M., Oyamada, K., Takahashi, H., Sato, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I.: Large-scale proteomic analysis of tyrosine-phosphorylation induced by T-cell receptor or B-cell receptor activation reveals new signaling pathways.

Proteomics, 9: 3549-3563 (2009).

51. Saiga, T., Fukuda, T., Matsumoto, M., Tada, H., Okano, H.J., Okano, H., Nakayama, K.I.: Fbxo45 forms a novel ubiquitin ligase complex and is required for neuronal development.

Mol. Cell. Biol., 29: 3529-3543 (2009).

52. Zhang, J., Hung, A.C., Ng, P.Y., Nakayama, K.I., Hu, Y., Li, B., Porter, A.G., Dhakshinamoorthy, S.: PKCdelta mediates Nrf2-dependent protection of neuronal cells from NO-induced apoptosis.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 386: 750-756 (2009).

53. Jiang, X., Austin, P.F., Niederhoff, R.A., Manson, S.R., Riehm, J.J., Cook, B.L., Pengue, G., Chitaley, K., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Weintraub, S.J.: Mechanoregulation of proliferation.

Mol. Cell. Biol., 29: 5104-5114 (2009).

54. Bohgaki, M., Matsumoto, M., Atsumi, T., Kondo, T., Yasuda, S., Horita, T., Nakayama, K.I., Okumura, F., Hatakeyama, S., Koike, T.: Plasma gelsolin facilitates interaction between beta(2) glycoprotein I and alpha5beta1 integrin.

J. Cell. Mol. Med., (2009).

55. Matsuda, M., Tsutsumi, K., Kanematsu, T., Fukami, K., Terada, Y., Takenawa, T., Nakayama, K.I., Hirata, M.: Involvement of phospholipase C-related inactive protein in the mouse reproductive system through the regulation of gonadotropin levels.

Biol. Reprod., 81: 681-689 (2009).

56. Wu, Y.J., Sala-Newby, G.B., Shu, K.T., Yeh, H.I., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Newby, A.C., Bond, M.: S-phase kinase-associated protein-2 (Skp2) promotes vascular smooth muscle cell proliferation and neointima formation in vivo.
J. Vasc. Surg., 50: 1135-1142 (2009).
57. Ranchal, I., Gonzalez, R., Bello, R.I., Ferrin, G., Hidalgo, A.B., Linares, C.I., Aguilar-Melero, P., Gonzalez-Rubio, S., Barrera, P., Marchal, T., Nakayama, K.I., de la Mata, M., Muntane, J.: The reduction of cell death and proliferation by p27(Kip1) minimizes DNA damage in an experimental model of genotoxicity.
Int. J. Cancer, 125: 2270-2280 (2009).
58. Oyamada, A., Ikebe, H., Itsumi, M., Saiwai, H., Okada, S., Shimoda, K., Iwakura, Y., Nakayama, K.I., Iwamoto, Y., Yoshikai, Y., Yamada, H.: Tyrosine kinase 2 plays critical roles in the pathogenic CD4 T cell responses for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis.
J. Immunol., 183: 7539-7546 (2009).
59. Tanaka, S., Wakeyama, H., Akiyama, T., Takahashi, K., Amano, H., Nakayama, K.I., Nakamura, K.: Regulation of osteoclast apoptosis by bcl-2 family protein bim and caspase-3.
Adv. Exp. Med. Biol., 658: 111-116 (2010).
60. Wang, H., Bauzon, F., Ji, P., Xu, X., Sun, D., Locker, J., Sellers, R.S., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Cobrinik, D., Zhu, L.: Skp2 is required for survival of aberrantly proliferating Rb1-deficient cells and for tumorigenesis in Rb1^{+/-} mice.
Nature Genet., 42: 83-88 (2010).
61. Tada, H., Okano, H.J., Takagi, H., Shibata, S., Yao, I., Matsumoto, M., Saiga, T., Nakayama, K.I., Kashima, H., Takahashi, T., Setou, M., Okano, H.: Fbxo45, a novel ubiquitin ligase, regulates synaptic activity.
J. Biol. Chem., 285: 3840-3849 (2010).
62. Fujii, M., Kanematsu, T., Ishibashi, H., Fukami, K., Takenawa, T., Nakayama, K.I., Moss, S.J., Nabekura, J., Hirata, M.: Phospholipase C-related but catalytically inactive protein is required for insulin-induced cell surface expression of gamma-aminobutyric acid type A receptors.
J. Biol. Chem., 285: 4837-4846 (2010).
63. Masuda, K., Ishikawa, Y., Onoyama, I., Unno, M., de Alboran, I.M., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Complex regulation of cell-cycle inhibitors by Fbxw7 in mouse embryonic fibroblasts.
Oncogene, 29: 1798-1809 (2010).
64. Tsukada, Y., Ishitani, T., Nakayama, K.I.: KDM7 is a dual demethylase for histone H3 Lys 9 and Lys 27 and functions in brain development.
Genes Dev., 24: 432-437 (2010).
65. Old, J.B., Kratzat, S., Hoellein, A., Graf, S., Nilsson, J.A., Nilsson, L., Nakayama, K.I., Peschel, C., Cleveland, J.L., Keller, U.B.: Skp2 directs Myc-mediated suppression of p27Kip1 yet has modest effects on Myc-driven lymphomagenesis.
Mol. Cancer Res., 8: 353-362 (2010).
66. Lin, H.K., Chen, Z., Wang, G., Nardella, C., Lee, S.W., Chan, C.H., Yang, W.L., Wang, J., Egia, A., Nakayama, K.I., Cordon-Cardo, C., Teruya-Feldstein, J., Pandolfi, P.P.: Skp2 targeting suppresses tumorigenesis by Arf-p53-independent cellular senescence.
Nature, 464: 374-379 (2010).
67. Iwatsuki, M., Mimori, K., Ishii, H., Yokobori, T., Takatsuno, Y., Sato, T., Toh, H., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Baba, H., Mori, M.: Loss of FBXW7, a cell cycle regulating gene, in colorectal

cancer: clinical significance.

Int. J. Cancer, 126: 1828-1837 (2010).

68. Chan, C.H., Lee, S.W., Li, C.F., Wang, J., Yang, W.L., Wu, C.Y., Wu, J., Nakayama, K.I., Kang, H.Y., Huang, H.Y., Hung, M.C., Pandolfi, P.P., Lin, H.K.: Deciphering the transcriptional complex critical for RhoA gene expression and cancer metastasis.

Nature Cell Biol., 12: 457-467 (2010).

69. Susaki, E., Kaneko-Oshikawa, C., Miyata, K., Tabata, M., Yamada, T., Oike, Y., Katagiri, H., Nakayama, K.I.: Increased E4 activity in mice leads to ubiquitin-containing aggregates and degeneration of hypothalamic neurons resulting in obesity.

J. Biol. Chem., 285: 15538-15547 (2010).

70. Ohzono, C., Etoh, S., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hirota, Y., Tanaka, Y., Fujita, H.: Nedd4-interacting protein 2, a short half-life membrane protein degraded in lysosomes, negatively controls down-regulation of connexin43.

Biol. Pharm. Bull., 33: 951-957 (2010).

71. Hatano, A., Matsumoto, M., Higashinakagawa, T., Nakayama, K.I.: Phosphorylation of the chromodomain changes the binding specificity of Cbx2 for methylated histone H3.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 397: 93-99 (2010).

72. Mizokami, A., Tanaka, H., Ishibashi, H., Umebayashi, H., Fukami, K., Takenawa, T., Nakayama, K.I., Yokoyama, T., Nabekura, J., Kanematsu, T., Hirata, M.: GABA(A) receptor subunit alteration-dependent diazepam insensitivity in the cerebellum of phospholipase C-related inactive protein knockout mice.

J. Neurochem., 114: 302-310 (2010).

73. Okumura, F., Matsunaga, Y., Katayama, Y., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S.: TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3.

J. Cell Sci., 123: 2238-2245 (2010).

74. Benirschke, R.C., Thompson, J.R., Nomine, Y., Wasielewski, E., Juranic, N., Macura, S., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Botuyan, M.V., Mer, G.: Molecular basis for the association of human E4B U box ubiquitin ligase with E2-conjugating enzymes Ubch5c and Ubc4.

Structure, 18: 955-965 (2010).

75. Ma, H., Yu, L., Byra, E.A., Hu, N., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Kawamoto, T., Ren, J.: Aldehyde dehydrogenase 2 knockout accentuates ethanol-induced cardiac depression: role of protein phosphatases.

J. Mol. Cell. Cardiol., 49: 322-329 (2010).

76. Tsukada, Y., Nakayama, K.I.: In vitro histone demethylase assay.

Cold Spring Harb. Protoc., 2010: pdb prot5512 (2010).

77. Takeda, H., Kawamura, Y., Miura, A., Mori, M., Wakamatsu, A., Yamamoto, J., Isogai, T., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Natsume, T., Nomura, N., Goshima, N.: Comparative analysis of human SRC-family kinase substrate specificity in vitro.

J. Proteome Res., 9: 5982-5993 (2010).

78. Hayakawa, H., Fujikane, A., Ito, R., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Sekiguchi, M.: Human proteins that specifically bind to 8-oxoguanine-containing RNA and their responses to oxidative stress.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 403: 220-224 (2010).

79. Bohgaki, M., Matsumoto, M., Atsumi, T., Kondo, T., Yasuda, S., Horita, T., Nakayama, K.I., Okumura, F., Hatakeyama, S., Koike, T.: Plasma gelsolin facilitates interaction between beta2 glycoprotein I and alpha5beta1 integrin.
J. Cell. Mol. Med., 15: 141-151 (2011).
80. Katagiri, K., Ueda, Y., Tomiyama, T., Yasuda, K., Toda, Y., Ikehara, S., Nakayama, K.I., Kinashi, T.: Deficiency of Rap1-binding protein RAPL causes lymphoproliferative disorders through mislocalization of p27kip1.
Immunity, 34: 24-38 (2011).
81. Onoyama, I., Suzuki, A., Matsumoto, A., Tomita, K., Katagiri, H., Oike, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Fbxw7 regulates lipid metabolism and cell fate decisions in the mouse liver.
J. Clin. Invest., 121: 342-354 (2011).
82. Iriuchishima, H., Takubo, K., Matsuoaka, S., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Nojima, Y., Suda, T.: Ex vivo maintenance of hematopoietic stem cells by quiescence induction through Fbxw7α overexpression.
Blood, 117: 2373-2377 (2011).
83. Wu, H., Pomeroy, S.L., Ferreira, M., Teider, N., Mariani, J., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S., Tron, V.A., Saltibus, L.F., Spyrapoulos, L., Leng, R.P.: UBE4B promotes Hdm2-mediated degradation of the tumor suppressor p53.
Nature Med., 17: 347-355 (2011).
84. Inuzuka, H., Shaik, S., Onoyama, I., Gao, D., Tseng, A., Maser, R.S., Zhai, B., Wan, L., Gutierrez, A., Lau, A.W., Xiao, Y., Christie, A.L., Aster, J., Settleman, J., Gygi, S.P., Kung, A.L., Look, T., Nakayama, K.I., DePinho, R.A., Wei, W.: SCF(FBW7) regulates cellular apoptosis by targeting MCL1 for ubiquitylation and destruction.
Nature, 471: 104-109 (2011).
85. Lu, C., Huang, X., Zhang, X., Roensch, K., Cao, Q., Nakayama, K.I., Blazar, B.R., Zeng, Y., Zhou, X.: miR-221 and miR-155 regulate human dendritic cell development, apoptosis, and IL-12 production through targeting of p27kip1, KPC1, and SOCS-1.
Blood, 117: 4293-4303 (2011).
86. Matsumoto, A., Onoyama, I., Sunabori, T., Kageyama, R., Okano, H., Nakayama, K.I.: Fbxw7-dependent degradation of Notch is required for control of "stemness" and neuronal-glia differentiation in neural stem cells.
J. Biol. Chem., 286: 13754-13764 (2011).
87. Matsumoto, A., Tateishi, Y., Onoyama, I., Okita, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Fbxw7beta resides in the endoplasmic reticulum membrane and protects cells from oxidative stress.
Cancer Sci., 102: 749-755 (2011).
88. Tachiyama, R., Ishikawa, D., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Yoshimori, T., Yokota, S., Himeno, M., Tanaka, Y., Fujita, H.: Proteome of ubiquitin/MVB pathway: possible involvement of iron-induced ubiquitylation of transferrin receptor in lysosomal degradation.
Genes Cells, 16: 448-466 (2011).
89. Inoue, S., Matsushita, T., Tomokiyo, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Kinoshita, T., Shimazaki, K.: Functional analyses of the activation loop of phototropin2 in Arabidopsis.
Plant Physiol., 156: 117-128 (2011).
90. Rodriguez, S., Wang, L., Mumaw, C., Srour, E.F., Lo Celso, C., Nakayama, K., Carlesso, N.: The SKP2 E3 ligase regulates basal homeostasis and stress-induced regeneration of HSCs.

Blood, 117: 6509-6519 (2011).

91. Sistrunk, C., Macias, E., Nakayama, K., Kim, Y., Rodriguez-Puebla, M.L.: Skp2 is necessary for Myc-induced keratinocyte proliferation but dispensable for Myc oncogenic activity in the oral epithelium.

Am. J. Pathol., 178: 2470-2477 (2011).

92. Fotovati, A., Abu-Ali, S., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Impaired ovarian development and reduced fertility in female mice deficient in Skp2.

J. Anat., 218: 668-677 (2011).

93. Yu, Z., Ono, C., Kim, H.B., Komatsu, H., Tanabe, Y., Sakae, N., Nakayama, K.I., Matsuoka, H., Sora, I., Bunney, W.E., Tomita, H.: Four mood stabilizers commonly induce FEZ1 expression in human astrocytes.

Bipolar Disord., 13: 486-499 (2011).

94. Zou, P., Yoshihara, H., Hosokawa, K., Tai, I., Shinmyozu, K., Tsukahara, F., Maru, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Suda, T.: p57(Kip2) and p27(Kip1) cooperate to maintain hematopoietic stem cell quiescence through interactions with Hsc70.

Cell Stem Cell, 9: 247-261 (2011).

95. Matsumoto, A., Takeishi, S., Kanie, T., Susaki, E., Onoyama, I., Tateishi, Y., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells.

Cell Stem Cell, 9: 262-271 (2011).

96. Moroishi, T., Nishiyama, M., Takeda, Y., Iwai, K., Nakayama, K.I.: The FBXL5-IRP2 axis is integral to control of iron metabolism in vivo.

Cell Metab., 14: 339-351 (2011).

97. Matsumoto, A., Susaki, E., Onoyama, I., Nakayama, K., Hoshino, M., Nakayama, K.I.: Deregulation of the p57-E2F1-p53 axis results in nonobstructive hydrocephalus and cerebellar malformation in mice.

Mol. Cell. Biol., 31: 4176-4192 (2011).

98. Okumura, F., Okumura, A.J., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S.: TRIM8 regulates Nanog via Hsp90beta-mediated nuclear translocation of STAT3 in embryonic stem cells.

Biochim. Biophys. Acta, 1813: 1784-1792 (2011).

99. Fuster, J.J., Gonzalez-Navarro, H., Vinue, A., Molina-Sanchez, P., Andres-Manzano, M.J., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Diez-Juan, A., Bernad, A., Rodriguez, C., Martinez-Gonzalez, J., Andres, V.: Deficient p27 phosphorylation at serine 10 increases macrophage foam cell formation and aggravates atherosclerosis through a proliferation-independent mechanism.

Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 31: 2455-2463 (2011).

100. Matsuzaki, F., Shirane, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Protrudin serves as an adaptor molecule that connects KIF5 and its cargoes in vesicular transport during process formation.

Mol. Biol. Cell, 22: 4602-4620 (2011).

101. Bargagna-Mohan, P., Paranthan, R.R., Hamza, A., Zhan, C.G., Lee, D.M., Kim, K.B., Lau, D.L., Srinivasan, C., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Herrmann, H., Mohan, R.: Corneal antifibrotic switch identified in genetic and pharmacological deficiency of vimentin.

J. Biol. Chem., 287: 989-1006 (2012).

102. Nishiyama, M., Skoultchi, A.I., Nakayama, K.I.: Histone H1 recruitment by CHD8 is essential for suppression of the Wnt-beta-catenin signaling pathway.

Mol. Cell. Biol., 32: 501-512 (2012).

103. Oshikawa, K., Matsumoto, M., Oyamada, K., Nakayama, K.I.: Proteome-wide identification of ubiquitylation sites by conjugation of engineered lysine-less ubiquitin.

J. Proteome Res., 11: 796-807 (2012).

104. Kanie, T., Onoyama, I., Matsumoto, A., Yamada, M., Nakatsumi, H., Tateishi, Y., Yamamura, S., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Genetic reevaluation of the role of F-box proteins in cyclin D1 degradation.

Mol. Cell. Biol., 32: 590-605 (2012).

105. Chow, C., Wong, N., Pagano, M., Lun, S.W., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Lo, K.W.: Regulation of APC/C(Cdc20) activity by RASSF1A-APC/C(Cdc20) circuitry.

Oncogene, 31: 1975-1987 (2012).

106. Hoshi, H., Hao, W., Fujita, Y., Funayama, A., Miyauchi, Y., Hashimoto, K., Miyamoto, K., Iwasaki, R., Sato, Y., Kobayashi, T., Miyamoto, H., Yoshida, S., Mori, T., Kanagawa, H., Katsuyama, E., Fujie, A., Kitagawa, K., Nakayama, K.I., Kawamoto, T., Sano, M., Fukuda, K., Ohsawa, I., Ohta, S., Morioka, H., Matsumoto, M., Chiba, K., Toyama, Y., Miyamoto, T.: Aldehyde-stress resulting from Aldh2 mutation promotes osteoporosis due to impaired osteoblastogenesis.

J. Bone Miner. Res., 27: 2015-2023 (2012).

107. Suzuki, S., Fukasawa, H., Misaki, T., Togawa, A., Ohashi, N., Kitagawa, K., Kotake, Y., Liu, N., Niida, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Yamamoto, T., Kitagawa, M.: The amelioration of renal damage in Skp2-deficient mice canceled by p27 Kip1 deficiency in Skp2^{-/-} p27^{-/-} mice.

PLoS One, 7: e36249 (2012).

108. Yumimoto, K., Matsumoto, M., Oyamada, K., Moroishi, T., Nakayama, K.I.: Comprehensive Identification of Substrates for F-box Proteins by Differential Proteomics Analysis.

J. Proteome Res., in press. (2012).

109. Liu, N., Matsumoto, M., Kitagawa, K., Kotake, Y., Suzuki, S., Shirasawa, S., Nakayama, K.I., Nakanishi, M., Niida, H., Kitagawa, M.: Chk1 phosphorylates the tumour suppressor Mig-6, regulating the activation of EGF signalling.

EMBO J., 31: 2365-2377 (2012).

110. Chan, C.H., Li, C.F., Yang, W.L., Gao, Y., Lee, S.W., Feng, Z., Huang, H.Y., Tsai, K.K., Flores, L.G., Shao, Y., Hazle, J.D., Yu, D., Wei, W., Sarbassov, D., Hung, M.C., Nakayama, K.I., Lin, H.K.: The Skp2-SCF E3 ligase regulates Akt ubiquitination, glycolysis, herceptin sensitivity, and tumorigenesis.

Cell, 149: 1098-1111 (2012).

111. Fukushima, H., Matsumoto, A., Inuzuka, H., Zhai, B., Lau, A.W., Wan, L., Gao, D., Shaik, S., Yuan, M., Gygi, S.P., Jimi, E., Asara, J.M., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Wei, W.: SCF(Fbw7) modulates the NFkappaB signaling pathway by targeting NFkappaB2 for ubiquitination and destruction.

Cell Rep., 1: 434-443 (2012).

112. Ellman, M.B., Kim, J.S., An, H.S., Kroin, J.S., Li, X., Chen, D., Yan, D., Buechter, D.D., Nakayama, K., Liu, B., Morgan, S., Im, H.J.: The pathophysiologic role of the protein kinase Cdelta pathway in the intervertebral discs of rabbits and mice: in vitro, ex vivo, and in vivo studies.

Arthritis Rheum., 64: 1950-1959 (2012).

113. Ishikawa, Y., Hosogane, M., Okuyama, R., Aoyama, S., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Opposing functions of Fbxw7 in keratinocyte growth, differentiation and skin

tumorigenesis mediated through negative regulation of c-Myc and Notch.

Oncogene, in press. (2012).

114. Grim, J.E., Knoblaugh, S.E., Guthrie, K.A., Hagar, A., Swanger, J., Hespelt, J., Delrow, J.J., Small, T., Grady, W.M., Nakayama, K.I., Clurman, B.E.: Fbw7 and p53 cooperatively suppress advanced and chromosomally unstable intestinal cancer.

Mol. Cell. Biol., 32: 2160-2167 (2012).

115. Yokobori, T., Mimori, K., Iwatsuki, M., Ishii, H., Tanaka, F., Sato, T., Toh, H., Sudo, T., Iwaya, T., Tanaka, Y., Onoyama, I., Kuwano, H., Nakayama, K.I., Mori, M.: Copy number loss of FBXW7 is related to gene expression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma.

Int. J. Oncol., 41: 253-259 (2012).

116. Kita, Y., Nishiyama, M., Nakayama, K.I.: Identification of CHD7(S) as a novel splicing variant of CHD7 with functions similar and antagonistic to those of the full-length CHD7(L).

Genes Cells, 17: 536-547 (2012).

117. Cremasco, V., Decker, C.E., Stumpo, D., Blackshear, P.J., Nakayama, K.I., Nakayama, K., Lupu, T.S., Graham, D.B., Novack, D.V., Faccio, R.: PKCdelta deficiency perturbs bone homeostasis by selective uncoupling of cathepsin K secretion and ruffled border formation in osteoclasts.

J. Bone Miner. Res., 27: 2452-2463 (2012).

118. Okita, Y., Matsumoto, A., Yumimoto, K., Isoshita, R., Nakayama, K.I.: Increased efficiency in the generation of induced pluripotent stem cells by Fbxw7 ablation.

Genes Cells, 17: 768-777 (2012).

119. Tateishi, Y., Matsumoto, A., Kanie, T., Hara, E., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: Development of mice without Cip/Kip CDK inhibitors.

Biochem. Biophys. Res. Commun., 427: 285-292 (2012).

120. Narumi, R., Murakami, T., Kuga, T., Adachi, J., Shiromizu, T., Muraoka, S., Kume, H., Kadera, Y., Matsumoto, M., Nakayama, K., Miyamoto, Y., Ishitobi, M., Inaji, H., Kato, K., Tomonaga, T.: A strategy for large-scale phosphoproteomics and SRM-based validation of human breast cancer tissue samples.

J. Proteome Res., 11: 5311-5322 (2012).

121. Saita, S., Shirane, M., Nakayama, K.I.: Selective escape of proteins from the mitochondria during mitophagy.

Nature Commun., 4: 1410 (2013).

122. Furutachi, S., Matsumoto, A., Nakayama, K.I., Gotoh, Y.: p57 controls adult neural stem cell quiescence and modulates the pace of lifelong neurogenesis.

EMBO J., (2013).

123. Hirano, A., Yumimoto, K., Tsunematsu, R., Matsumoto, M., Oyama, M., Kozuka-Hata, H., Nakagawa, T., Lanjakornsiripan, D., Nakayama, K.I., Fukada, Y.: FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes.

Cell, 152: 1106-1118 (2013).

124. Reavie, L., Buckley, S.M., Loizou, E., Takeishi, S., Aranda-Orgilles, B., Ndiaye-Lobry, D., Abdel-Wahab, O., Ibrahim, S., Nakayama, K.I., Aifantis, I.: Regulation of c-Myc ubiquitination controls chronic myelogenous leukemia initiation and progression.

Cancer Cell, 23: 362-375 (2013).

125. Takeishi, S., Matsumoto, A., Onoyama, I., Naka, K., Hirao, A., Nakayama, K.I.: Ablation of

fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence.
Cancer Cell, 23: 347-361 (2013).

(2)その他の著作物(総説、書籍など)

(英文総説)

1. Susaki, E., Nakayama, K.I.: Multiple mechanisms for p27(Kip1) translocation and degradation.
Cell Cycle, 6: 3015-3020 (2007).
2. Onoyama, I., Nakayama, K.I.: Fbxw7 in cell cycle exit and stem cell maintenance: insight from gene-targeted mice.
Cell Cycle, 7: 3307-3313 (2008).
3. Susaki, E., Nakayama, K.I.: Functional similarities and uniqueness of p27 and p57: insight from a knock-in mouse model.
Cell Cycle, 8: 2497-2501 (2009).
4. Susaki, E., Nakayama, K.I.: An animal model manifesting neurodegeneration and obesity.
Aging, 2: 453-456 (2010).
5. Okita, Y., Nakayama, K.I.: UPS delivers pluripotency.
Cell Stem Cell, 11: 728-730 (2012).
6. Matsumoto, A., Nakayama, K.I.: Role of key regulators of the cell cycle in maintenance of hematopoietic stem cells.
Biochim. Biophys. Acta, 1830: 2335-2344 (2013).

(和文総説)

1. 松本有樹修, 中山敬一: E3 ユビキチンリガーゼ.
分子細胞治療, 6: 96-97 (2007).
2. 中山敬一, 中山啓子: SCF 型ユビキチンリガーゼによる細胞周期調節と発癌.
実験医学(増刊)「細胞内の輪廻転生ータンパク質の分解機構」, 26: 166-174 (2008).
3. 小野山一郎, 中山敬一: 細胞が増殖停止シグナルに応答する分子機構:ユビキチンリガーゼサブユニット Fbxw7 による制御.
蛋白質核酸酵素, 53: 1217-1224 (2008).
4. 松本有樹修, 中山敬一: ユビキチン化による細胞増殖の制御ーその破綻としての癌.
Biotherapy, 22: 363-370 (2008).
5. 中山敬一: ノックアウトマウスと細胞周期研究.
細胞工学, 28: 65-66 (2009).
6. 松本雅記, 中山敬一: プロテオミクスが拓く細胞周期研究.
細胞工学, 28: 59-64 (2009).
7. 西山正章, 中山敬一: クロマチンリモデリング因子 CHD8 による p53 機能のエピジェネティック制御機構.
実験医学, 27: 536-539 (2009).

8. 西山正章, 中山敬一: p53 の新しい制御機構: ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール.
細胞工学, 28: 270-271 (2009).
9. 松本雅記, 中山敬一: 定量的リン酸化プロテオーム解析によるキナーゼ基質の網羅的解析.
実験医学, 27: 2563-2569 (2009).
10. 武石昭一郎, 中山敬一: F-box タンパク質による細胞周期制御と発癌.
生体の科学, 60: 585-592 (2009).
11. 西山正章, 中山敬一: 発生過程におけるアポトーシスの新しい制御機構: クロマチンリモデリングによる p53 のエピジェネティックコントロール.
実験医学(増刊)「細胞死研究総集編」, 28: 1029-1035 (2010).
12. 東田裕一, 中山敬一: 遺伝子サイレンシングマークを消去するヒストン脱メチル化酵素 KDM7 の発見.
細胞工学, 29: 596-597 (2010).
13. 東田裕一, 中山敬一: 脳形成に関与するヒストン脱メチル化酵素 KDM7 の発見.
実験医学, 28: 2129-2132 (2010).
14. 弓本佳苗, 中山敬一: 拡大する F-box タンパク質の世界.
細胞工学, 29: 1200-1206 (2010).
15. 松本雅記, 中山敬一: MRM 法によるタンパク質の絶対定量.
実験医学, 29: 583-591 (2011).
16. 喜多泰之, 西山正章, 中山敬一: 初期発生における CHD8 依存的な p53 の制御機構.
BioClinica, (2011).
17. 中津海洋一, 松本雅記, 中山敬一: プロテオミクスが拓くタンパク質分解研究.
実験医学(増刊)「細胞内のリノベーション機構: タンパク質分解系による生体制御」, 29: 2047-2053 (2011).
18. 松本有樹修, 中山敬一: 造血幹細胞の自己複製には p57 による増殖速度の抑制が重要である.
細胞工学, 30: 1074-1075 (2011).
19. 諸石寿朗, 中山敬一: FBXL5-IRP2 系は生体内の鉄代謝制御に不可欠である.
細胞工学, 30: 1188-1189 (2011).
20. 松本有樹修, 中山敬一: p57 は造血幹細胞の静止期と幹細胞性の維持に必須である.
実験医学, 29: 2998-3001 (2011).
21. 武石昭一郎, 中山敬一: 癌幹細胞の静止期維持機構.
細胞工学, 31: 18-23 (2012).
22. 中津海洋一, 松本雅記, 中山敬一: mTOR ターゲットのリン酸化プロテオミクス.

細胞工学, 31: 1360-1367 (2012).

23. 松本有樹修, 中山敬一: 細胞周期抑制因子 CDK インヒビターによる造血幹細胞の維持機構.

実験医学(増刊)「ヒトと医学のステージへ拡大する細胞周期 2013」, 224-228 (2013).

24. 武石昭一郎, 中山敬一: がん幹細胞における静止期維持機構の解明とがん治療への応用.

実験医学(増刊)「ヒトと医学のステージへ拡大する細胞周期 2013」, 284-289 (2013).

25. 松本雅記, 中山敬一: 次世代定量プロテオミクスによる細胞周期研究.

実験医学(増刊)「ヒトと医学のステージへ拡大する細胞周期 2013」, 336-342 (2013).

(著書)

1. 東田裕一: クロマチン免疫沈降法(ChIP).

実験医学別冊「分子間相互作用解析ハンドブック」(磯辺俊明, 中山敬一, 伊藤隆司 編) pp. 183-188. 羊土社(東京). (2007).

2. 中山敬一, 中山啓子: 細胞周期:細胞増殖の制御メカニズム.

細胞周期:細胞増殖の制御メカニズム(中山敬一, 中山啓子 編) pp. メディカル・サイエンス・インターナショナル(東京). (2008).

3. 中山敬一, 松本雅記: 間違いだらけのマス選び:質量分析計購入ガイド.

細胞工学別冊「明日を拓く新次元プロテオミクス:医学生物学を変える次世代技術の威力」(中山敬一, 松本雅記 編) pp. 11-25. 秀潤社(東京). (2009).

4. 松本雅記, 中山敬一: 次世代定量プロテオミクス.

細胞工学別冊「明日を拓く新次元プロテオミクス:医学生物学を変える次世代技術の威力」(中山敬一, 松本雅記 編) pp. 33-40. 秀潤社(東京). (2009).

5. 松本雅記, 中山敬一: in vitro 安定同位体標識法によるリン酸化の定量解析.

実験医学別冊「創薬・タンパク質研究のためのプロテオミクス解析」(小田吉哉, 長野光司 編) pp. 31-37. 羊土社(東京). (2010).

6. 洲崎悦生, 中山敬一: G0 期とその周辺:細胞周期の停止と再増殖の分子メカニズム.

細胞周期フロンティア(佐方功幸, 稲垣昌樹, 岸本健雄 編) pp. 212-217. 共立出版(東京). (2010).

7. 松本雅記, 中山敬一: プロテオミクスが拓く細胞周期研究.

細胞周期フロンティア(佐方功幸, 稲垣昌樹, 岸本健雄 編) pp. 23-28. 共立出版(東京). (2010).

8. 諸石寿朗, 中山敬一: ユビキチン.

生物機能モデルと新しいリソース・リサーチツール(小幡裕一, 城石俊彦, 芹川忠夫, 田中啓二, 米川博通 編) pp. 199-209. エル・アイ・シー(東京). (2011).

9. 中山敬一, 蟹江共春: タンパク質分解.

イラストで徹底理解するシグナル伝達キーワード事典(山本雅, 仙波憲太郎, 山梨裕司 編) pp. 203-214. 羊土社(東京). (2012).

10. 沖田康孝, 中山敬一: 疾患モデルの作製と利用ーがん。
モデル動物利用マニュアル (中村卓郎 編) pp. 188-199. エル・アイ・シー (東京). (2012).

(3)国際学会発表及び主要な国内学会発表

① 招待講演 (国内会議 76 件、国際会議 21 件)

(国際学会)

1. Nakayama, K.I.: Fbw7 is required for G0 maintenance and tumor suppression: Lessons from a series of conditional knockout mice.

The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. (Invited speaker) Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).

2. Nakayama, K.I.: Ubiquitin ligases: cell-cycle control and cancer.

4th International Symposium on Functional molecules linked to neurodegeneration and oncogenesis -Towards Molecular Targeted Therapy -. (Invited speaker) Nagoya, Japan. 10/25 (2007).

3. Nakayama, K.I.: Epigenetic control of p53 function by CHD8 through recruitment of histone H1.

The Third International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest Under Stress. (Invited speaker) Onna, Okinawa, Japan. 4/9 (2008).

4. Nakayama, K.I., Onoyama, I., Tsunematsu, R., Matsumoto, A., Nakayama, K.: Conditional inactivation of Fbxw7 results in a defect in cell cycle exit and tumorigenesis.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 5/18 (2008).

5. Nakayama, K.I.: Cell cycle control during T-cell development.

Japan-German Immunology Seminar "International Conference on Immune Regulation in Health and Disease". (Invited speaker) Fukuoka. 11/5 (2008).

6. Nakayama, K.I.: Two ubiquitin ligases control cell cycle in stem, progenitor, and differentiated cells.

The 2nd Global COE International Symposium joint with the 18th Hot Spring Harbor Symposium of Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University "Stem Cells and Regenerative Medicine". (Invited speaker) Fukuoka. 11/9 (2008).

7. Nakayama, K.I.: Two F-box proteins Skp2 and Fbw7 control cell cycle exit and re-entry.

ZOMES V: The Fifth International Symposium on the COP9 signalosome, Proteasome, and eIF3: At the interface between signaling & proteolysis. (Invited speaker) Yokohama. 11/12 (2008).

8. Matsumoto, A., Susaki, E., Onoyama, I., Nakayama, K.I.: Cell cycle inhibitor p57 is essential for neural development.

3rd Global-COE International Symposium: Stem Cells and Regenerative Medicine. (Invited speaker) Singapore. 2/16 (2009).

9. Nishiyama, M., Nakayama, K.I.: Epigenetic control of p53 function by CHD8 through recruitment of histone H1.

3rd Global-COE International Symposium: Stem Cells and Regenerative Medicine. (Invited speaker) Singapore. 2/16 (2009).

10. Nakayama, K.I., Yumimoto, K., Matsumoto, M.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship by differential proteomics.

The 4th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. (Invited speaker) Onna, Okinawa, Japan. 12/2 (2009).

11. Nakayama, K.I., Yumimoto, K., Matsumoto, M.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship by proteomics: Say good-bye to western blotting.

5th Global-COE International Symposium: Cell cycle and differentiation. (Invited speaker) Singapore. 2/24 (2010).

12. Nakayama, K.I.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship in ubiquitylation by differential proteomics: Say good-bye to western blotting.

Biology of the ubiquitin and the ubiquitin-like systems. (Invited speaker) Jerusalem. 3/14 (2010).

13. Nakayama, K.I., Yumimoto, K., Matsumoto, M.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship by proteomics: Say good-bye to western blotting.

6th Global-COE International Symposium: New Horizons for Modern Science – Biology and Medicine at the Crossroads. (Invited speaker) Fukuoka. 8/19 (2010).

14. Nakayama, K.I.: Comprehensive elucidation of enzyme-substrate relationship in ubiquitylation by differential proteomics: Say good-bye to western blotting.

MEXT Priority Research Project “Cell Proliferation Control” International Symposium “Cell Cycle and Cell Differentiation: From A to Z”. (Invited speaker) Nagoya. 11/6 (2010).

15. Nakayama, K.I., Yumimoto, K., Matsumoto, M., Oyamada, K., Moroishi, T.: Comprehensive and unbiased identification of substrates for ubiquitin ligases by differential proteomic analysis.

Cold Spring Harbor Symposium “The Ubiquitin Family”. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 5/18 (2011).

16. Wei, W., Inuzuka, H., Shaik, S., Onoyama, I., Gao, D., Tseng, A., Maser, R.S., Zhai, B., Wan, L., Gutierrez, A., Lau, A.W., Aster, J., Settlemann, J., Gygi, S.P., Kung, A.L., Look, T., Nakayama, K.I., DePinho, R.A.: SCFFbw7 regulates cellular apoptosis by targeting Mcl-1 for ubiquitination and destruction.

Cold Spring Harbor Symposium “The Ubiquitin Family”. (Invited speaker) Cold Spring Harbor, NY. 5/21 (2011).

17. Nakayama, K.I.: Road to absolute quantification of all human proteins by large-scale targeted proteomics.

The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. (Invited speaker) Onna, Okinawa, Japan. 10/26 (2011).

18. Nakayama, K.I.: Road to Human Proteome Project: Absolute quantification of all human proteins by large-scale targeted proteomics.

France-Japan Cancer Meeting. (Invited speaker) Montpellier, France. 11/24 (2011).

19. Nakayama, K.I.: Cell cycle, metabolism, and signal transduction in cancer revealed by next-generation proteomics.

2012 American Association for Cancer Research Annual Meeting. (Invited speaker) Chicago, USA. 3/31 (2012).

20. Nakayama, K.I.: Comprehensive profiling of cancer metabolism by the next generation proteomics.

10th Stem Cell Research Symposium. (Invited speaker) Awaji. 5/31 (2012).

21. Nakayama, K.I.: Comprehensive and unbiased identification of substrates for ubiquitin ligases by differential proteomics analysis.

HUPO 2012 11th World Congress. (Invited speaker) Boston, MA. 9/12 (2012).

(国内学会)

1. 中山敬一: 細胞周期を制御するユビキチン化機構.

第 1 回産業医科大学大学院シンポジウム「世界最先端の科学者たちから学ぶ」.(シンポジウム) 北九州. 3/3 (2007).

2. 中山敬一: 分化における細胞周期停止のメカニズムと発がん.

第 27 回日本医学会総会.(シンポジウム) 大阪. 4/6 (2007).

3. 中山敬一: クロマチンリモデリングによる p53 機能の制御.

千里ライフサイエンスセミナー「細胞周期制御異常とがん」.(招待講演) 大阪. 7/4 (2007).

4. 中山敬一: p53 機能の新しい制御機構: ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール.

Nuclear Signaling Japan 2007. (招待講演) 東京. 7/13 (2007).

5. 中山敬一: 細胞の増殖と分化はいかに制御されているか?.

日本免疫学会免疫サマースクール 2007. (招待講演) 福岡. 8/29 (2007).

6. 中山敬一: 細胞周期の制御に関わるユビキチンリガーゼとがん.

第 66 回日本癌学会学術総会. (JCA-Mauvernay Award 受賞講演) 横浜. 10/4 (2007).

7. 中山啓子, 中山敬一: 発がん G1-G0 期制御に寄与するユビキチンリガーゼ.

第 66 回日本癌学会学術総会. (シンポジウム) 横浜. 10/4 (2007).

8. 中山敬一: 細胞周期からの脱出と再進入: 癌治療と組織再生に向けて.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. (シンポジウム) 東京. 11/20 (2007).

9. 白根道子, 細田将太郎, 中山敬一: Protrudin の脂質結合による神経機能制御機構.

第 30 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/12 (2007).

10. 小野山一郎, 松本有樹修, 中山啓子, 中山敬一: Fbxw7 による G0 期維持機構とその破綻による発がん.

第 30 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/12 (2007).

11. 中山敬一: p53 機能の新しい制御機構: ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール.

第 30 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 横浜. 12/13 (2007).

12. 中山敬一: 細胞周期を制御するユビキチンリガーゼと発がん.
第 30 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 横浜. 12/14 (2007).
13. 雑賀徹, 多田敬典, 岡野栄之, 中山敬一: 新規ユビキチンリガーゼ Fbox45 はシナプス形成を制御する.
第 30 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/14 (2007).
14. 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: M 期特異的リン酸化の大規模定量解析.
第 30 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/14 (2007).
15. 中山敬一: 細胞周期とアポトーシスを結ぶ p53 制御の新機構: CHD8/ヒストン H1 によるエピジェネティックコントロール.
第 72 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム. (シンポジウム) 岐阜. 5/24 (2008).
16. 白根道子, 中山敬一: Protrudin ノックアウトマウスにおける痙性麻痺とスフィンゴ脂質結合による神経グリア相互作用への関与.
第 60 回日本細胞生物学会大会. (ミニシンポジウム) 横浜. 6/29 (2008).
17. 中山敬一, 白根道子: プロトルーディンは Rab11-GDP に結合し、特定の方向へ向かう膜輸送により神経突起形成を起こす.
第 60 回日本細胞生物学会大会. (ワークショップ) 横浜. 6/30 (2008).
18. 中山敬一: 細胞周期と癌.
第 19 回日本消化器癌発生学会総会. (教育講演) 別府. 8/29 (2008).
19. 中山敬一: ノックアウトマウスを用いた細胞周期研究: 癌の本質を探る.
第 22 回モロシヌス研究会. (招待講演) 東京. 9/12 (2008).
20. 中山敬一, 弓本佳苗, 押川清孝, 松本雅記: プロテオミクスが拓く細胞周期研究の新地平: リン酸化とユビキチン化に関する網羅的解析.
第 31 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 神戸. 12/11 (2008).
21. 白根道子, 細田将太郎, 中山敬一: Protrudin の脂質統合を介した神経機能制御への関与: Protrudin ノックアウトマウスからの知見.
第 31 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 神戸. 12/12 (2008).
22. 中山敬一: ユビキチン化による細胞周期のコントロールと胸腺腫瘍.
第 28 回日本胸腺研究会. (特別講演) 福岡. 2/14 (2009).
23. 中山敬一: クロマチンリモデリングによるアポトーシスの回避機構.
平成 20 年度生理学研究所研究会: 細胞死研究の多面的、包括的理解に向けて. (招待講演) 岡崎. 3/17 (2009).
24. 中山敬一: 細胞周期への出入りを制御するユビキチンリガーゼ群.
日本分子生物学会第 9 回春季シンポジウム: 分子生物学の新たな胎動～宮崎からの黎明の曙光～. (招待講演) 宮崎. 5/11 (2009).
25. 中山敬一: プロテオミクスが拓くユビキチン研究の新地平: 酵素－基質関係の網羅的解明に向けて.

千里ライフサイエンスセミナー「ユビキチン研究の新展開:病態生理学的観点から」.(招待講演) 大阪. 9/7 (2009).

26. 中山敬一: プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 29 回日本糖質学会年会. (シンポジウム) 高山. 9/11 (2009).

27. 中山敬一: プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:リン酸化とユビキチン化に関する網羅的解析.

第 82 回日本生化学会大会. (シンポジウム) 神戸. 10/21 (2009).

28. 中山敬一: 最新プロテオミクス技術による酵素-基質関係の網羅的解明.

プロテオミクス・構造生物学講演会. (特別講演) 東京. 11/2 (2009).

29. 白根道子, 中山敬一: Protrudin 依存的小胞輸送によるシナプス制御と神経障害.

第 32 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/10 (2009).

30. 青山慧, 石川善則, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼ SCFFbxw7 は Notch タンパク質分解により B 細胞の分化を制御する.

第 32 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/10 (2009).

31. 西山正章, 中山敬一: 初期発生において p53 機能を抑制するクロマチンリモデリング因子 CHD8.

第 32 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/11 (2009).

32. 中山敬一: プロテオミクスが拓く生命科学研究:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 3 回 FANTASY. (特別講演) 東京. 2/6 (2010).

33. 中山敬一: 細胞増殖をコントロールする分子機構:その破綻としての発癌.

第 6 回日本消化管学会総会学術総会. (招待講演) 福岡. 2/19 (2010).

34. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 74 回日本生化学会中部支部例会・シンポジウム. (招待講演) 名古屋. 5/29 (2010).

35. 中山敬一: ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出.

戦略的創造研究推進事業 (CREST)「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・平成 22 年度公開シンポジウム. (シンポジウム) 東京. 6/1 (2010).

36. 中山敬一: プロテオミクスを用いた酵素-基質関係の網羅的解明:ターゲットプロテオミクスの現状と将来.

日本プロテオーム学会 2010 年会. (招待講演) 浦安. 7/27 (2010).

37. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

Neuro 2010. (シンポジウム) 神戸. 9/4 (2010).

38. 中山敬一: 次世代プロテオミクスの現状と将来:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 69 回日本癌学会学術総会. (モーニングレクチャー) 神戸. 9/24 (2010).

39. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く新時代の医学生物学:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

RNA フロンティアミーティング 2010. (特別講演) 裾野. 9/27 (2010).

40. Hayakawa, H., Ito, R., Sekiguchi, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Human Proteins Specifically Bound to 8-Oxoguanine-containing RNA and their Responses to Oxidative Stress.

第 33 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 神戸. 12/7 (2010).

41. 西山正章, 中山敬一: 発生過程におけるアポトーシスの新しい制御機構:クロマチンリモデリングによる p53 のエピジェネティックコントロール.

第 33 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 神戸. 12/7 (2010).

42. 押川清孝, 松本雅記, 中山敬一: ユビキチン化修飾部位を網羅的に同定する方法の開発と応用.

第 33 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 神戸. 12/8 (2010).

43. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 33 回日本分子生物学会年会. (パイオニアズレクチャー) 神戸. 12/9 (2010).

44. 松本雅記, 中山敬一, 五島直樹, 夏目徹: 次世代プロテオミクスを用いたヒト総プロテオームの絶対定量.

第 33 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 神戸. 12/9 (2010).

45. 中山敬一: 次世代プロテオミクスによるユビキチンシステムの全貌解明.

第 28 回日本医学会総会. (シンポジウム) 東京. 4/9 (2011).

46. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 11 回日本分子生物学会春季シンポジウム. (招待講演) 金沢. 5/26 (2011).

47. 中山敬一: 癌幹細胞性に必要な G0 期維持機構.

第 15 回日本がん分子標的治療学会. (招待講演) 東京. 6/24 (2011).

48. 中山敬一: Cell cycle and cancer stem cells.

第 17 回日本遺伝子治療学会学術集会. (教育講演) 福岡. 7/17 (2011).

49. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平:もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

がん若手研究者ワークショップ. (特別講演) 茅野. 9/1 (2011).

50. 中山敬一: 細胞周期と癌幹細胞.

第 70 回日本癌学会学術総会. (シンポジウム) 名古屋. 10/3 (2011).

51. 中山敬一: がん幹細胞の細胞周期制御機構の解明に基づく治療法の開発.

第 49 回日本癌治療学会学術集会. (パネルディスカッション) 名古屋. 10/27 (2011).

52. 黒田真也, 柚木克之, 久保田浩行, 曾我朋義, 松本雅記, 中山敬一: An automatic and

unbiased identification of insulin signaling dependent metabolic control pathway by metabolome and phospho-proteome analysis.

第 34 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 横浜. 12/14 (2011).

53. 中山敬一, 松本雅記: Road to absolute quantification of all human proteins by large-scale targeted proteomics.

第 34 回日本分子生物学会年会. (シンポジウム) 横浜. 12/14 (2011).

54. 中津海洋一, 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: mTOR regulates transcription through FOXK1 phosphorylation.

第 34 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 横浜. 12/16 (2011).

55. 中山敬一: Next -generation proteomics and its application to biology and medicine: Say good-bye to western blotting.

第 9 回心血管幹細胞研究会. (Keynote Lecture) 東京. 1/13 (2012).

56. 中山敬一: がん幹細胞と細胞周期: "G0 期追出し療法" によるがん根治の可能性.

第 3 次 対がん 10 年総合戦略・文科省がん研究支援活動合同公開シンポジウム. (招待講演) 東京. 1/31 (2012).

57. 中山敬一: ヒトプロテオーム絶対定量プロジェクト: 網羅的ターゲットプロテオミクスの開発と応用.

基研研究会「モデル生物・非モデル生物のプロテオミクスが拓く生物学」. (招待講演) 岡崎. 5/14 (2012).

58. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く医学研究の新地平: もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 55 回日本腎臓学会学術総会. (招待講演) 横浜. 6/1 (2012).

59. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平: もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

疾患関連創薬バイオマーカー探索研究. (招待講演) 東京. 6/21 (2012).

60. 中山敬一: 次世代プロテオミクスが拓く生命科学研究の新地平: もうウェスタンブロッティングは要らない? !.

第 22 回日本サイトメトリー学会学術集会. (招聘講演) 豊中. 6/29 (2012).

61. 中山敬一, 松本雅記, 押川清孝, 松崎英美子: ヒトプロテオーム絶対定量プロジェクト: 網羅的ターゲットプロテオミクスの開発と応用.

第 10 回日本プロテオーム学会. (シンポジウム) 東京. 7/26 (2012).

62. 松本雅記: 定量プロテオミクスのための試料調製.

第 10 回日本プロテオーム学会. (教育講演) 東京. 7/26 (2012).

63. 中山敬一: プロテオームと疾患研究.

ヒトプロテオゲノミクスの現状とロードマップによる推進: エピゲノムとプロテオームの統合によるヒトの生命と病気の解明. (シンポジウム) 東京. 7/28 (2012).

64. 中山敬一: G0 期維持機構の解明: 癌幹細胞を撲滅できるか? .

第 71 回日本癌学会学術総会. (シンポジウム) 札幌. 9/19 (2012).

65. 松本雅記, 松崎芙美子, 高見知代, 小山田浩二, 中山敬一: 情報基盤プロテオミクスによるヒトプロテオームの絶対定量.

第 5 回定量生物学の会年会. (招待講演) 東京. 11/24 (2012).

66. 中山敬一: 正常幹細胞と癌幹細胞における G0 期維持機構: “G0 期追出し療法” による癌根治の可能性.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/11 (2012).

67. 細田将太郎, 清水誠之, 石谷太, 中山敬一, 白根道子: 新規 FKBP38 結合タンパク質 ANKMY2 はソニックヘッジホッグシグナル伝達を制御する.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/13 (2012).

68. 中津海洋一, 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: mTOR と転写をつなぐ新規分子 FOXK1 の発見とがん進展における促進作用.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/13 (2012).

69. 足達俊吾, 穂本真佐江, 田中利好, 日置雄策, 村上裕, 菅裕明, 松本雅記, 中山敬一, 堀本勝久, 家村俊一郎, 夏目徹: 質量分析計による RNA 制御因子の同定法の開発とその応用.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/13 (2012).

70. 平野有沙, 恒松良佑, 松本雅記, 尾山大明, 秦裕子, ランジャコーンシリパンダーリン, 中山敬一, 深田吉孝: F-box タンパク質によるユビキチン化を介した CRY タンパク質の安定性制御.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/14 (2012).

71. 弓本佳苗, 秋吉清百合, 小野山一郎, 森正樹, 三森功士, 中山敬一: 宿主 Fbxw7 が癌転移を抑制する.

第 35 回日本分子生物学会年会. (ワークショップ) 福岡. 12/14 (2012).

72. 諸石寿朗, 西山正章, 山内隆好, 武田有紀子, 岩井一宏, 中山敬一: 生体における鉄代謝制御の中心をなす FBXL5-IRP2 系の発見.

第 85 回日本生化学会大会. (シンポジウム) 福岡. 12/15 (2012).

73. Matsumoto, M., Matsuzaki, F., Oshikawa, K., Oyamada, K., Goshima, N., Natsume, T., Nakayama, K.I.: Accurate and absolute quantification of human proteome by large-scale targeted proteomics.

第 85 回日本生化学会大会. (シンポジウム) 福岡. 12/15 (2012).

74. Kuroda, S., Yugi, K., Kubota, H., Soga, T., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Unbiased identification of global network for signaling and metabolism from trans-omic data.

第 85 回日本生化学会大会. (シンポジウム) 福岡. 12/15 (2012).

75. 中山敬一, 西山正章, 諸石寿朗: ユビキチン化による鉄代謝制御機構とその破綻.

第 85 回日本生化学会大会. (シンポジウム) 福岡. 12/16 (2012).

76. 中山敬一: ユビキチンシステムの網羅的解析基盤の創出.

戦略的創造研究推進事業 (CREST) 「生命システムの動作原理と基盤技術」研究領域・平成 24 年度公開シンポジウム. (シンポジウム) 東京. 2/25 (2013).

② 口頭発表 (国内会議 28 件、国際会議 5 件)

(国際学会)

1. Matsuzaki, F., Shirane, M., Matsumoto, M., Nakayama, K.I.: Protrudin is a novel adaptor protein of KIF5 and regulates neuronal function.

7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity. (Oral) Singapore. 2/12 (2011).

2. Moroishi, T., Nishiyama, M., Yumimoto, K., Matsumoto, M., Iwai, K., Nakayama, K.I.: Loss of SCFFbx15 results in deregulation of iron metabolism in mice.

7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity. (Oral) Singapore. 2/12 (2011).

3. Takeishi, S., Matsumoto, A., Onoyama, I., Naka, K., Hirao, A., Nakayama, K.I.: Ablation of Fbxw7 eliminates leukemia-initiating cells by preventing quiescence.

Post-GCOE Symposium & Retreat on Cell-fate decision: Function and dysfunction in homeostasis. (Oral) Singapore. 3/4 (2013).

4. Yamauchi, T., Nishiyama, M., Moroishi, T., Yumimoto, K., Nakayama, K.I.: MDM2 mediates nonproteolytic polyubiquitylation of the DEAD-box RNA helicase DDX24 to regulate pre-rRNA processing.

Post-GCOE Symposium & Retreat on Cell-fate decision: Function and dysfunction in homeostasis. (Oral) Singapore. 3/4 (2013).

5. Yamamura, S., Yumimoto, K., Nakayama, K.I.: Fbxw7-dependent ubiquitylation mediates the degradation of SOX9.

Post-GCOE Symposium & Retreat on Cell-fate decision: Function and dysfunction in homeostasis. (Oral) Singapore. 3/5 (2013).

(国内学会)

1. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子: Geminin は着床前初期発生に必須である.

第 30 回日本分子生物学会年会. (一般口演) 横浜. 12/11 (2007).

2. 石川善則, 奥山隆平, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼ Fbw7 は表皮角化細胞において増殖と分化を抑制する.

第 30 回日本分子生物学会年会. (一般口演) 横浜. 12/12 (2007).

3. 洲崎悦生, 山田哲也, 尾池雄一, 片桐秀樹, 中山敬一: 新規ユビキチン化酵素 E4B は摂色中枢の機能維持に関与する.

第 30 回日本分子生物学会年会. (一般口演) 横浜. 12/13 (2007).

4. 松本有樹修, 洲崎悦生, 小野山一郎, 中山敬一: 細胞周期ブレーキ因子 p57 は小脳形成に必須の役割を担う:p57 コンディショナルノックアウトマウスからの知見.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/9 (2008).

5. 細田将太郎, 白根道子, 中山敬一: Protrudin の効果的な突起伸長作用には VAMP-associated protein(VAP)が必要である.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/10 (2008).

6. 石田典子, 家村俊一郎, 夏目徹, 中山敬一, 中山啓子: 新規 RING-finger タンパク質は NAPI1L1 のユビキチン化を介して細胞増殖を制御する.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/11 (2008).

7. 弓本佳苗, 松本雅記, 中山敬一: 定量的プロテオミクスを用いた細胞周期を制御するユビキチンリガーゼ基質の網羅的同定.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/11 (2008).

8. 洲崎悦生, 中山啓子, 中山敬一: ノックインマウスを用いた p27 と p57 の機能的類似性と特異性の検討.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/11 (2008).

9. 青山慧, 石川善則, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼ SCF/Fbxw7 は B リンパ球の分化・生存の制御因子である.

第 31 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/11 (2008).

10. 三輪正直, 山田真生, 津田雅貴, 虫明正敏, 中山啓子, 中山敬一, 藤澤順一, 田中正和: DNA 損傷で誘導される中心体増幅の新しいシグナル経路.

第 68 回日本癌学会学術総会. (口頭発表) 横浜. 10/1 (2009).

11. Shirane, M., Nakayama, K.I.: Protrudin regulates Rab11-dependent synaptic function via interaction with sphingolipid.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/7 (2010).

12. Fujita, H., Iwabu, Y., Tokunaga, K., Sata, T., Fujimoto, K., Tachiyama, R., Ishikawa, D., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Tanaka, Y.: The endosomal vesicles carrying ubiquitylated cargos selectively localizes to the cleavage furrow during cytokinesis.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/8 (2010).

13. 松本有樹修, 洲崎悦生, 小野山一郎, 星野幹雄, 中山敬一: p57 は E2F 活性を調節することにより脳発生に必須の役割担う.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/8 (2010).

14. 宗岡哲也, 坪井智広, 弓本佳苗, 中山敬一: ユビキチンリガーゼ SCFFbxl3 は基質 Cry1 の結合に依存して SCF 複合体を形成する.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/9 (2010).

15. 中津海洋一, 松本雅記, 中山敬一: リン酸化プロテオミクスを用いた新規 mTOR 下流分子の網羅的探索と機能解析.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/10 (2010).

16. 久家貴寿, 鳴海良平, 村岡賢, 足立淳, 松本雅記, 中山敬一, 松原久裕, 松下一之, 野村文夫, 長野一也, 角田慎一, 朝長毅: 大規模リン酸化プロテオーム解析による大腸癌バイオマーカー探索.

第 33 回日本分子生物学会年会. (一般口頭発表) 神戸. 12/10 (2010).

17. 松本有樹修, 武石昭一郎, 中山敬一: p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/13 (2011).

18. 武石昭一郎, 松本有樹修, 小野山一郎, 仲一仁, 平尾敦, 中山敬一: Ablation of Fbw7 eliminates leukemia stem cells by preventing quiescence.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/13 (2011).

19. 沖田康孝, 松本有樹修, 中山敬一: Fbxw7 α regulates the maintenance and differentiation of neural stem cells.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/13 (2011).

20. 白根道子, 中山敬一: Protrudin regulates vesicular trafficking in neurons via interaction with PtdIns5P.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/13 (2011).

21. 弓本佳苗, 秋吉清百合, 立石悠基, 小野山一郎, 三森功士, 森正樹, 中山敬一: Promotion of cancer metastasis by deletion of Fbxw7 in host environment.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

22. 片山雄太, 西山正章, 中山敬一: Long isoform of chromatin remodeling factor CHD8 is necessary for development and cell differentiation.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

23. 西山正章, 中山敬一: Histone H1 recruitment mediated by CHD8 is essential for suppression of Wnt/ β -catenin signaling pathway.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

24. 諸石寿朗, 西山正章, 武田有紀, 岩井一宏, 中山敬一: The FBXL5-IRP2 axis is integral to control of iron metabolism in vivo.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

25. 細田將太郎, 白根道子, 中山敬一: The mitochondrial protein translocation from mitochondria in mitophagy.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

26. 村上裕輔, 前田武志, 岸ちひろ, 松本雅記, 中山敬一, 塩見泰史, 西谷秀男: Protection of licensing factor Cdt1 from degradation in M phase by mitotic kinase Plk1 and Cdk1- CyclinB phosphorylation.

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/15 (2011).

27. 立石悠基, 蟹江共春, 松本有樹修, 中山敬一: Generation and characterization of mice lacking all CIP/KIP CDK inhibitors (p21/p27/p57).

第 34 回日本分子生物学会年会. (一般講演) 横浜. 12/16 (2011).

28. 平野有沙, 恒松良佑, 松本雅記, 尾山大明, 秦裕子, ランジャコーンシリバンダーリン, 中山敬一, 深田吉孝: 時計タンパク質 CRY の安定化を担う新規ユビキチンリガーゼの同定.

第 85 回日本生化学会大会. (口頭発表) 福岡. 12/16 (2012).

③ ポスター発表 (国内会議 51 件、国際会議 16 件)

(国際学会)

1. Ishikawa, Y., Onoyama, I., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Accumulation of Notch induces cell cycle arrest in the tumor suppressor gene Fbxw7 deficient MEFs.

The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).

2. Kitagawa, K., Hiramatsu, Y., Suzuki, T., Uchida, C., Hattori, T., Kikuchi, H., Oda, T., Hatakeyama, S., Nakayama, K.I., Yamamoto, T., Konno, H., Kitagawa, M.: Tob1 is a novel target for degradation by the SCFSkp2 ubiquitin ligase.

The Second International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. Onna, Okinawa, Japan. 3/26 (2007).

3. Ishikawa, Y., Onoyama, I., Okuyama, R., Nakayama, K.I., Nakayama, K.: Differential specificity of substrate accumulation in ubiquitin ligase SCFFbxw7 deficient fibroblasts and keratinocytes.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". Cold Spring Harbor, NY. 5/15 (2008).

4. Matsumoto, M., Oyamada, K., Nakayama, K.I.: A global map of mitotic phosphoproteome uncovers unexpected signaling pathways in mitosis.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". Cold Spring Harbor, NY. 5/16 (2008).

5. Matsumoto, A., Onoyama, I., Matsuoka, S., Oike, Y., Suda, T., Nakayama, K.I.: Fbxw7 is essential for G0 maintenance and functions of the stem cells.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". Cold Spring Harbor, NY. 5/16 (2008).

6. Nishiyama, M., Tsukada, Y.-i., Oshikawa, K., Nakagawa, T., Nakayama, K.I.: Epigenetic control of p53 function by CHD8 through recruitment of histone H1.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". Cold Spring Harbor, NY. 5/16 (2008).

7. Susaki, E., Nakayama, K., Nakayama, K.I.: A p27-p57 knock-in mouse model uncovers common and specific roles of p27 and p57.

Cold Spring Harbor Symposium "The Cell Cycle". Cold Spring Harbor, NY. 5/16 (2008).

8. Saita, S., Shirane, M., Nakayama, K.I.: Promotion of neurite extension by protrudin requires its interaction with VAMP-associated protein (VAP).

5th Global-COE International Symposium: Cell cycle and differentiation. Singapore. 2/24 (2010).

9. Muneoka, T., Tsuboi, T., Yumimoto, K., Nakayama, K.I.: Association with Cry1 is essential for Fbxl3 to form SCF complex.

7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity. Singapore. 2/12 (2011).

10. Okita, Y., Matsumoto, A., Takeishi, S., Kanie, T., Susaki, E., Nakayama, K.I.: p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells.

7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity. Singapore. 2/12 (2011).

11. Tateishi, Y., Matsumoto, A., Nakayama, K.I.: Generation and characterization of mice lacking

all CIP/KIP CDK inhibitors.

7th Global-COE International Symposium: Cancer Stem Cells, Inflammation and Immunity. Singapore. 2/12 (2011).

12. Kanie, T., Onoyama, I., Matsumoto, A., Nakayama, K.I.: Genetic reevaluation of the role of four F-box proteins in cyclin D1 degradation.

Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family". Cold Spring Harbor, NY. 5/18 (2011).

13. Moroishi, T., Nishiyama, M., Yumimoto, K., Matsumoto, M., Iwai, K., Nakayama, K.I.: Loss of Fbxl5 results in deregulation of iron metabolism in mice.

Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family". Cold Spring Harbor, NY. 5/18 (2011).

14. Nakayama, K., Onoyama, I., Matsumoto, A., Ishikawa, Y., Aoyama, S., Nakayama, K.I.: Tissue-specific functions of Fbxw7 revealed by conditional gene targeting in multiple organs.

Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family". Cold Spring Harbor, NY. 5/19 (2011).

15. Yumimoto, K., Matsumoto, M., Nagai, R., Imaizumi, K., Nakayama, K.I.: Fbxw7 controls mesenchymal differentiation through degradation of functionally related transcription factors.

Cold Spring Harbor Symposium "The Ubiquitin Family". Cold Spring Harbor, NY. 5/19 (2011).

16. Matsumoto, A., Takeishi, S., Nakayama, K.I.: p57 is required for quiescence and maintenance of adult hematopoietic stem cells.

The 5th International Workshop on Cell Regulations in Division and Arrest. Onna, Okinawa, Japan. 10/26 (2011).

(国内学会)

1. 小野山一郎, 松本有樹修, 中山啓子, 中山敬一: Fbw7 による G0 期維持とその破綻による発がん.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. 東京. 11/20 (2007).

2. 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: 細胞内リン酸化の大規模定量による M 期制御機構の解析.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. 東京. 11/20 (2007).

3. 松本有樹修, 小野山一郎, 松岡佐保子, 尾池雄一, 須田年生, 中山敬一: 種々の臓器における Fbw7 コンディショナルノックアウトマウスの解析.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. 東京. 11/20 (2007).

4. 原賢太郎, 中山敬一, 中山啓子: Geminin は着床前初期発生に必須である.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. 東京. 11/20 (2007).

5. 石川善則, 小野山一郎, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼ Fbw7 はマウス胎仔線維芽細胞において Notch 依存的な細胞増殖障害を抑制する.

「生物の発生・分化・再生」第 6 回公開シンポジウム. 東京. 11/20 (2007).

6. 多田敬典, 岡野ジェイムス洋尚, 高木博, 松本雅記, 矢尾育子, 雑賀徹, 中山敬一, 鹿島晴雄, 瀬藤光利, 岡野栄之: シナプス活性を制御するユビキチンリガーゼ Kspot.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/11 (2007).
7. 石田典子, 畠山鎮次, 中山啓子, 中山敬一: 新規ユビキチン様修飾分子 GdX による cyclin F と細胞周期 M 期の制御.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/12 (2007).
8. 鈴木小由里, 深澤洋敬, 北川恭子, 内田千晴, 服部隆行, 磯部智康, 小田敏明, 三崎太郎, 中山啓子, 中山敬一, 菱田明, 山本龍夫, 北川雅敏: 腎障害進行における Skp2 発現亢進の解析: Skp2KO マウスを用いた検討.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/12 (2007).
9. 東田裕一, ザン, イ., 中山敬一: JHDM1 によるヒストンの脱メチル化とユビキチン化の制御.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/13 (2007).
10. 杉本直樹, 中川直, 家村俊一郎, 夏目徹, 中山敬一: ユビキチン伸長因子 E4B の新規結合タンパク UBL7 についての機能解析.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/14 (2007).
11. 田中佳苗, 松本雅記, 中山敬一: 定量的プロテオミクスによる F-box タンパク質の網羅的基質探索法の開発.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/14 (2007).
12. 松本有樹修, 小野山一郎, 中山敬一: 脳における Fbxw7 アイソフォームの機能解析.
第 30 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/14 (2007).
13. 山田真生, 田中正和, 中山啓子, 中山敬一, 藤澤順一, 三輪正直: DNA 損傷による中心体増幅を起こす経路の特定.
第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/9 (2008).
14. 石川善則, 奥山隆平, 小野山一郎, 青山慧, 中山敬一, 中山啓子: ユビキチンリガーゼ SCF は表皮角化細胞において増殖と分化を抑制する.
第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/10 (2008).
15. 山田政典, 小野山一郎, 恒松良祐, 中山敬一: ユビキチン-プロテアソーム系によるサイクリン D1 の分解における SCF 複合体の機能解析.
第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/10 (2008).
16. 雑賀徹, 多田敬典, 岡野栄之, 中山敬一: 新規ユビキチン化酵素複合体 Fbxo45-PAM は神経発達に重要な役割を果たす.
第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/10 (2008).
17. 遠藤彬則, 山本章嗣, 松本雅記, 中山敬一, 稲田利文, 喜多村直実, 駒田雅之: 脱ユビキチン化酵素 USP36 による核小体機能の制御.
第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/11 (2008).
18. 押川清孝, 中川直, 松本雅記, 中山敬一: ユビキチンリガーゼ欠損マウスを用いたユビキチン化標的タンパク質同定法の構築.

第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/11 (2008).

19. 筑波隆幸, 柳川三千代, 門脇知子, 岡本美子, 岡元邦彰, 中山敬一, 山本健二: カテプシン E 欠損はオートファージの低下とそれに伴うミトコンドリア機能異常と酸化ストレスを引き起こす.

第 31 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/12 (2008).

20. 松本有樹修, 洲崎悦生, 小野山一郎, 中山敬一: 細胞周期抑制因子 p57 は小脳発生に必須の役割を担う.

第 32 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/10 (2009).

21. 弓本佳苗, 松本雅記, 中山敬一: 定量的プロテオミクスを用いたユビキチンリガーゼ基質の網羅的な同定.

第 32 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/11 (2009).

22. 洲崎悦生, 金子-押川千恵, 宮田敬士, 田畑光久, 尾池雄一, 山田哲也, 片桐秀樹, 中山敬一: E4 経路の過剰な活性化は視床下部摂食中枢の神経障害と肥満を誘発する.

第 32 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/11 (2009).

23. 東田裕一, 石谷太, 中山敬一: 新規二重特異性ヒストン脱メチル化酵素 KDM7 は脳の発生に関与する.

第 32 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/12 (2009).

24. 松崎芙美子, 白根道子, 松本雅記, 中山敬一: Protrudin は KIF5 との相互作用を介して神経機能を制御する.

第 32 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/12 (2009).

25. 久家貴寿, 松下一之, 野村文夫, 松原久裕, 中山敬一, 朝長毅: 大腸癌の大規模リン酸化プロテオーム解析.

第 69 回日本癌学会学術総会. 神戸. 9/24 (2010).

26. 諸石寿朗, 西山正章, 岩井一宏, 中山敬一: ディファレンシャル・プロテオミクス技術を用いた鉄代謝制御ユビキチンリガーゼ Fbx15 の網羅的基質探索と個体における機能解析.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/7 (2010).

27. 村上裕輔, 岸ちひろ, 松本雅記, 中山敬一, 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. 12/8 (2010).

28. 松崎芙美子, 白根道子, 松本雅記, 中山敬一: Protrudin は KIF5 のアダプタータンパク質として働き、神経機能を制御する.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2010).

29. 片山雄太, 西山正章, 中山敬一: クロマチンリモデリング因子 CHD8 の L 型アイソフォームはマウスの個体発生や細胞分化に必須である.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2010).

30. 蟹江共春, 小野山一郎, 松本有樹修, 立石悠基, 中山敬一: サイクリン D1 を抑制するユビキチンリガーゼの遺伝学的再検証.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/8 (2010).

31. Hatano, A., Matsumoto, M., Higashinakagawa, T., Nakayama, K.I.: Phosphorylation of the chromodomain changes the binding specificity of Cbx2 for methylated histone H3.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/9 (2010).

32. Okumura, F., Matsunaga, Y., Katayama, Y., Nakayama, K.I., Hatakeyama, S.: TRIM8 modulates STAT3 activity through negative regulation of PIAS3.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/9 (2010).

33. 足立淳, 鳴海良平, 佐野聖三, 久家貴寿, 白水崇, 松本雅記, 中山敬一, 茂木章, 井倉毅, 高田穰, 朝長毅: DNA 損傷応答ネットワークにおけるリン酸化・ユビキチン化修飾ダイナミクスのプロテオーム解析.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/9 (2010).

34. 弓本佳苗, 松本雅記, 小山田浩二, 中山敬一: DiPIUS 法を用いたユビキチンリガーゼ基質の網羅的同定.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/10 (2010).

35. 鳴海良平, 久家貴寿, 松本雅記, 中山敬一, 石飛真人, 稲治英生, 宮本泰豪, 加藤菊也, 朝長毅: 定量的リン酸化プロテオミクスによる乳癌組織の予後不良群と予後良好群の比較.

第 33 回日本分子生物学会年会. 神戸. 12/10 (2010).

36. Shiromizu, T., Narumi, R., Kuga, T., Adachi, J., Matsubara, H., Matsumoto, M., Nakayama, K.I., Tomonaga, T.: Large scale phosphoproteomic analysis of colon cancer metastasis.

第 63 回日本細胞生物学会大会. 札幌. 6/27 (2011).

37. 山村聡, 弓本佳苗, 松本雅記, 今泉和則, 中山敬一: Fbxw7 controls mesenchymal differentiation through degradation of functionally related transcription factors.

第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/13 (2011).

38. 大西隆史, 白根道子, 中山敬一: Identification and functional analysis of novel protrudin isoform.

第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/13 (2011).

39. 柚木克之, 久保田浩行, 豊島有, 玲, 野., 曾我朋義, 松本雅記, 中山敬一, 黒田真也: A trans-omics analysis of insulin-stimulated Fao rat hepatoma cell.

第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/14 (2011).

40. 松崎美美子, 白根道子, 松本雅記, 中山敬一: Protrudin-KIF5 complex contributes to vesicular transport during neuritogenesis.

第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/15 (2011).

41. 藤兼亜耶, 早川浩, 伊東理世子, 中山敬一, 関口睦夫: Specific binding of human proteins to 8-oxoguanine-containing RNA.

第 34 回日本分子生物学会年会. 横浜. 12/16 (2011).

42. 幡野敦, 松本雅記, 中山敬一: 定量的リン酸化プロテオミクスによる Calcineurin の網羅的基質探索.

第 10 回日本プロテオーム学会. 東京. 7/26 (2012).

43. 喜多泰之, 西山正章, 中山敬一: クロマチンリモデリングタンパク質 CHD7 の新規スプライシングバリエーションの発見とその機能解析.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/11 (2012).

44. 渡邊心也, 杉本のぞみ, 松本雅記, 中山敬一, 藤田雅俊: プロテオミクスアプローチを用いた新規 GRWD1 結合タンパク質の網羅的同定による GRWD1 の機能解明.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/11 (2012).

45. 橋本寛, 松崎芙美子, 細田將太郎, 大西隆史, 中山敬一, 白根道子: Protrudin が関与する遺伝性痙性対麻痺の病態メカニズム.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/12 (2012).

46. 磯下理恵子, 小野山一郎, 鈴木淳史, 松本有樹修, 富田謙吾, 片桐秀樹, 尾池雄一, 中山啓子, 中山敬一: Fbxw7 はマウスの肝臓において脂質代謝及び細胞分化決定を制御する.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/13 (2012).

47. 諸石寿朗, 西山正章, 岩井一宏, 中山敬一: ユビキチンリガーゼ FBXL5 による鉄代謝制御と肝がん.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/13 (2012).

48. 大西隆史, 橋本寛, 細田將太郎, 中山敬一, 白根道子: 神経特異的な protrudin 新規アイソフォームの発現機能解析.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/14 (2012).

49. 沖田康孝, 松本有樹修, 弓本佳苗, 磯下理恵子, 中山敬一: Fbxw7 の発現抑制は iPS 細胞形成を促進する.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/14 (2012).

50. 山内隆好, 西山正章, 諸石寿朗, 弓本佳苗, 押川清孝, 中山敬一: MDM2 による RNA ヘリカーゼ DDX24 の非分解的制御機構の解明.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/14 (2012).

51. 武石昭一郎, 松本有樹修, 小野山一郎, 仲一仁, 平尾敦, 中山敬一: Fbxw7 阻害は静止期を破綻させることにより白血病幹細胞を根絶する.

第 35 回日本分子生物学会年会. 福岡. 12/14 (2012).

(4)知財出願

①国内出願 (1 件)

1. 「タンパク質の定量方法」、中山敬一, 松本雅記. (出願人: 国立大学法人九州大学) 2009/7/17. 特願 2009-169045.

②海外出願 (1 件)

1. 「タンパク質の定量方法」、中山敬一, 松本雅記. (出願人: 国立大学法人九州大学) 2010/7/16. PCT/JP2010/062124. アメリカ合衆国、ヨーロッパ.

③その他の知的財産権

特になし。

(5)受賞・報道等

①受賞

第3回 JCA-Mauvernay Award 受賞(平成19年10月)

第27回井上学術賞 受賞(平成23年2月)

②マスコミ(新聞・TV等)報道

1. 「科学技術振興機構「戦略的創造研究推進事業」CREST 研究成果から」科学新聞. 2007 8/31.
2. 「がん抑制遺伝子働きの調節物質 九大、たんぱく質発見」日本経済新聞. 2009 1/19.
3. 「がん抑制役を制御 たんぱく質 九大グループ発見 抗がん剤への応用期待」朝日新聞. 2009 1/19.
4. 「たんぱく質 がん細胞を増殖 九大グループ解明 新たな抗がん剤開発に道」読売新聞. 2009 1/19.
5. 「がん誘発 たんぱく質特定 抑制する遺伝子働き 妨害、九大」毎日新聞. 2009 1/19.
6. 「がん抑制遺伝子「働き阻害」タンパク質 九大・中山教授グループ発見 新たな薬剤開発へ期待」西日本新聞. 2009 1/19.
7. 「九大グループ、がん発症機構の手がかりを遺伝子レベルで発見」財経新聞. 2009 1/19.
8. 「がん抑制阻害するタンパク質発見 九大グループ」共同通信. 2009 1/19.
9. 「抑制遺伝子の働き阻害 タンパク質研究 がん解明へ着々 九大教授らのグループ発見」産経新聞. 2009 1/20.
10. 「細胞急増抑える遺伝子確認 九大、がん解明に期待」産経新聞. 2009 3/10.
11. 「細胞急増抑える遺伝子確認 九大、がん解明に期待」共同通信. 2009 3/10.
12. 「がん抑制へ”名乗り” 増殖調節の遺伝子 中山九大教授グループ発見」西日本新聞. 2009 3/11.
13. 「将来を担う科学者顕彰 九大・佐藤教授と白根准教授が受賞 日本学術振興会賞」西日本新聞. 2010 2/2.
14. 「中性脂肪合成 酵素で制御 九大グループ解明」読売新聞. 2010 12/2.
15. 「肝臓の中性脂肪制御の酵素特定 九大 メタボ予防 応用期待」西日本新聞. 2010

12/2.

16. 「中性脂肪合成、制御する酵素解明 九大、メタボ治療へ応用期待」共同通信. 2010 12/2.

17. 「中性脂肪合成 酵素が制御:九州大、マウス実験 メタボ治療に応用期待」日本経済新聞. 2010 12/5.

18. 「肝臓の脂肪合成抑制 九大が関与酵素特定 メタボ疾患治療に期待」科学新聞. 2010 12/10.

19. 「がんの「種」退治可能に 九大・中山教授の研究班」西日本新聞. 2011 1/3.

20. 「特定タンパク質が血液づくりに必須 九大チーム解明 輸血技術や白血病治療など応用に期待」中日新聞. 2011 9/2.

21. 「血液成分つくる「造血幹細胞」働き維持する物質確認 九大・中山教授 タンパク質「p57」」西日本新聞. 2011 9/2.

22. 「九大、体内の鉄量調整たんぱく質を解明」日経産業新聞. 2011 9/7.

23. 「鉄分摂取制御 仕組み解明 九大チーム 肝がん予防に道」読売新聞. 2011 9/7.

24. 「がん再発・転移のたんぱく質 九州大チーム発見 新薬に期待」朝日新聞. 2013 3/19.

25. 「細胞活性化 抗がん剤有効に 九州大 白血病再発抑制に効果」読売新聞. 2013 3/19.

26. 「がん幹細胞 退治に成功 九大、再発防止へ光」産経新聞. 2013 3/19.

27. 「治療へ前進 がん「もと」の細胞を退治 再発防ぐ可能性」西日本新聞. 2013 3/19.

28. 「九大が新治療法 がん幹細胞を直接攻撃 5～10 年以内に実用化へ」化学工業日報. 2013 3/19.

29. 「がんの「もと」から根絶＝薬効少ない「静止期」追い出す一新療法で再発防止期待」時事通信. 2013 3/19.

30. 「がんのもと、退治に成功 九州大、再発防ぐ可能性」共同通信. 2013 3/19.

31. 「がんのもと:死滅に成功、根治療法に道 九大チームが発表」毎日新聞. 2013 3/19.

32. 「九州大学、ユビキチン系で働く新規の抗がん剤標的分子を発見、がん幹細胞を退治」日経バイオテク. 2013 3/19.

33. 「「がん作る細胞」に新治療の可能性」NHK ニュース「おはよう日本」. 2013 3/19.

34. 「“がん幹細胞”に抗がん剤が効果、新治療法を開発」TBS ニュース i. 2013 3/19.

35. 「九州大学 がん幹細胞の死滅に初めて成功」日テレ NEWS24. 2013 3/19.
36. 「新治療法開発”がん幹細胞”に抗がん剤が効果」みのもんたの朝ズバッ！. 2013 3/19.
37. 「”がんの元”破壊に成功」モーニングバード. 2013 3/19.
38. 「九州大学 「がん幹細胞」死滅に初めて成功」ZIP！. 2013 3/19.
39. 「ガン幹細胞を直接攻撃 九大 新たな治療法を開発」科学新聞. 2013 3/22.

§ 6 研究期間中の活動

年月日	名称	場所	参加人数	概要
H20.2.4	生医研セミナー	九州大学	30	演者:寺崎 哲也 所属:東北大学大学院薬学 研究科 薬物送達学分野・ 教授 最新の知識の提供と議論
H20.2.8	生医研セミナー	九州大学	30	演者:上田 泰己 所属:独立行政法人理化学 研究所 発生・再生科学総 合研究センター システムバ イオロジー研究チーム・チー ムリーダー 最新の知識の提供と議論
H20.2.8	生医研セミナー	九州大学	30	演者:夏目 徹 所属:(独)産業技術総合研 究所 生物情報解析研究セ ンター 機能ゲノムグループ タンパク質ネットワーク解析 チーム・チームリーダー 最新の知識の提供と議論
H20.2.21	生医研セミナー	九州大学	30	演者:仲野 徹 所属:大阪大学大学院医学 系研究科・教授 最新の知識の提供と議論
H20.3.7	生医研セミナー	九州大学	30	演者:中西 真 所属:名古屋市立大学大学 院医学研究科 細胞生物学 講座・教授 最新の知識の提供と議論
H20.6.13	生医研セミナー	九州大学	30	演者:五十嵐 和彦 所属:東北大学大学院・医 学系研究科・生物化学分 野・教授 最新の知識の提供と議論

H20.11.6	生医研セミナー	九州大学	30	演者:星野 幹雄 所属:国立精神神経センタ ー 神経研究所・部長 最新の知識の提供と議論
H21.1.13	生医研セミナー	九州大学	30	演者:井川 洋二 所属:東京医科歯科大学・ 客員教授 最新の知識の提供と議論
H21.2.24	生医研セミナー	九州大学	30	演者:瀬藤 光利 所属:名古屋市立大学大学 院医学研究科 細胞生物学 講座・教授 最新の知識の提供と議論
H21.4.17	生医研セミナー	九州大学	30	演者:黒田 真也 所属:東京大学大学院 理 学研究科 生物化学専攻・ 教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H21.5.8	生医研セミナー	九州大学	30	演者:夏目 徹 所属:(独)産業技術総合 研究所 臨海副都心センタ ー バイオメディシナル情 報研究センター 細胞シス テム制御解析チーム・チー ムリーダー目的:最新の知 識の提供と議論
H21.11.6	生医研セミナー	九州大学	30	演者:三浦 正幸 所属:東京大学大学院 薬 学研究科 遺伝学教室・教 授 目的:最新の知識の提供と 議論
H21.11.13	生医研セミナー	九州大学	30	演者:岩井 一宏 所属:大阪大学大学院 生 命機能研究科 細胞ネット ワーク講座・教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.1.15	生医研セミナー	九州大学	30	演者:今泉 和則 所属:宮崎大学医学部解剖 学講座 分子細胞生物学分 野・教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.1.20	生医研セミナー	九州大学	30	演者:堀本 勝久 所属:(独)産業技術総合研 究所・生命情報工学研究セ

				ンター・研究チーム長 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.1.22	生医研セミナー	九州大学	30	演者:夏目 徹 所属:(独)産業技術総合 研究所 臨海副都心センタ ー バイオメディシナル情 報研究センター 細胞シス テム制御解析チーム・チー ムリーダー 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.1.22	生医研セミナー	九州大学	30	演者:五島 直樹 所属:(独)産業技術総合研 究所 バイオメディシナル情 報研究センター・主任研究 員 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.2.18	生医研セミナー	九州大学	30	演者:平尾 敦 所属:金沢大学・がん研究 所・教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.7.14	生医研セミナー	九州大学	30	演者:田矢 洋一 所属:シンガポール国立大 学・Cancer Life Science 研究 所・教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.7.29	生医研セミナー	九州大学	30	演者:藤森 俊彦 所属:自然科学研究機構 基礎生物学的研究所・教授 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.8.19～ 8.20	生医研国際シンポジウ ム	ルイガンズ ホテル(福 岡市東区)	200	演者:国外4名、国内17名 目的:日本の若手リーダー による発表と世界的なトップ サイエンティストとの意見交 換
H22.8.31	生医研セミナー	九州大学	30	演者:森下 博文 所属:ハーバード大学医学 部・ボストン小児病院・神経 科学部門・リサーチフェロー 目的:最新の知識の提供と 議論
H22.9.17	生医研セミナー	九州大学	30	演者:渡邊 信元 所属:理化学研究所・基幹

				研究所・チームヘッド 目的:最新の知識の提供と議論
H22. 12. 22	生医研セミナー	九州大学	30	演者:曾我 朋義 所属:慶應義塾大学先端生命科学研究所・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 6. 8	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:武藤 誠 所属:京都大学大学院医学研究科生体制御医学講座遺伝薬理学・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 7. 15	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:笠原 典之 所属:カリフォルニア大学ロサンゼルス校医学部内科学分子医科薬理学・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 9. 13	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:小布施 力史 所属:北海道大学大学院先端生命科学研究院分子細胞生物学的研究室・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 9. 22	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:近藤 滋 所属:大阪大学大学院生命機能研究科・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 9. 30	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:佐藤 俊朗 所属:慶應義塾大学医学部消化器内科・特任講師 目的:最新の知識の提供と議論
H23. 12. 6	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:大島正伸 所属:金沢大学がん進展制御研究所腫瘍遺伝学研究分野・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 2. 1	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:山本格 所属:新潟大学医学部・教授 目的:最新の知識の提供と議論

H24. 3. 23	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:佐々木敦朗 所属:ハーバード大学医学部・講師 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 4. 10	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:中山 雅敬 所属:Max-Planck-Institute for Molecular Biomedicine・客員研究員 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 4. 17	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:宮脇 敦史 所属:理化学研究所 脳科学総合研究センター 細胞機能探索チーム・チームリーダー 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 6. 11	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:内匠 透 所属:広島大学大学院 歯歯薬保健学研究院・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 6. 12	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:宮川 剛 所属:藤田保健衛生大学 総合医科学研究所 システム医科学研究部門・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 7. 3	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:杉村 竜一 所属:Stowers Institute for Medical Research Linheng Li laboratory・ポスドク 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 8. 23	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:黒田 真也 所属:東京大学大学院理学系研究科生物化学専攻・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H24. 10. 24	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:松野 浩嗣 所属:山口大学大学院理工学研究科・教授 目的:最新の知識の提供と議論
H25. 2. 14	生医研セミナー	九州大学	30 人	演者:柚崎 通介 所属:慶應義塾大学医学部生理学教室・教授 目的:最新の知識の提供と議論

§ 7 結び

本研究の当初の目標は「ユビキチンメカニズムの解明」であったが、DiPIUS 法の発明によって、その研究が順調に進展したことに加え、iMRM 法という全く新しい方法論を発明したことにより、最終的にはヒト全タンパク質の絶対定量法の確立という、ユビキチンという領域を超越した予想外の広がりを見せることになった。この方法論はほぼ全ての生命システムに応用することが可能で、将来的には大規模バイオマーカー探索などの臨床応用も視野に入れている。また現在世界的に熾烈な競争になっているヒトプロテオームプロジェクトに対しても、この iMRM 法がスタンダードになることが予想され、我が国がヒトプロテオーム解読の分野で圧倒的な優位性を占めることも不可能ではない。

われわれは平成9年度から14年度まで、CREST「脳を守る」、平成14年度から19年度まで CREST「生物の発生・分化・再生」でユビキチン系のバイオロジーに対する個別的な研究進めてきたが、平成19年度から24年度まで行った本 CREST「生命システムの動作原理と基盤技術」では、個別的な解析から網羅的な解析へと飛躍すべく、プロテオミクス技術を駆使して新たな方法論の確立を目指した。前研究で培った多くのノックアウトマウスやプロテオミクス技術は、本研究の大きな基礎となった。このように3回にわたって切れ目なく連続して CREST より支援をいただいていることは、われわれの研究活動にとって根本的な基盤であり、関係者各位に深く感謝の意を表したい。



九州大学 生体防御医学研究所 分子医科学分野