

平成 27 年 5 月 14 日現在

機関番号：27102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592805

研究課題名(和文)リン酸化を時空間的に制御するタンパク質複合体の機能解明研究

研究課題名(英文)Functional analysis of the molecular complex in spatiotemporal regulation of protein phosphorylation.

研究代表者

竹内 弘 (TAKEUCHI, HIROSHI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：70304813

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質のリン酸化・脱リン酸化を担う複数の酵素と複合体を形成する分子 PRIP を見出したので、タンパク質リン酸化シグナルによる開口分泌の調節に焦点を当てて、この分子の役割の解明を目指した。最終年度には(1)PRIPのC2ドメインが他のC2ドメインとヘテロダイマーを形成すること(2)PRIPと結合するキナーゼ Aktの tomosyn という分子のリン酸化を介した開口分泌調節機構を見出した。

本課題の研究成果は、複数のリン酸化・脱リン酸化酵素を含む複合体により細胞内のリン酸化シグナルを時空間的に調節する機序の理解を進め、その異常に基づく疾患の病態解明に資するものである。

研究成果の概要(英文)：We have previously isolated a signaling molecule, PRIP which forms the protein complex with multiple kinases and phosphatases. In this year, we identified that (a)the C2 domains of PRIP and those of other molecules form hetero-dimers, and (b)a PRIP-interacting kinase Akt regulates exocytosis by phosphorylation of its new substrate tomosyn.

The results obtained in this study would promote understanding the mechanism how the phospho-dependent cellular signaling is spatio-temporally regulated by the complex containing multiple enzymes responsible for protein phosphorylation/de-phosphorylation.

研究分野：医歯薬学

キーワード：リン酸化 脱リン酸化 細胞内情報伝達 開口分泌

1. 研究開始当初の背景

タンパク質のリン酸化状態は細胞機能を制御する主要な情報伝達機構の一翼を担い、キナーゼとホスファターゼの活性バランスによって調節される。一方、数百種類存在するキナーゼに対してその十分の一にも満たないホスファターゼが個々の細胞機能に対応するために、多種多様な結合分子の助けを借りて両酵素の活性や時空間的に効率的な反応の場への移動が厳密な調節される機構が知られるようになった。

申請者らは独自に見出したタンパク質 PRIP [PLC (phospholipase C)-related, but catalytically inactive protein] が、PP1 (protein phosphatase 1) や PP2A と結合する事を見出していた。異なるホスファターゼファミリーに属する両酵素を共に結合する PRIP は希少な分子であり、更に、キナーゼのひとつ Akt と結合する事も分っていた。このことは PRIP がこれら酵素と複合体を形成しタンパク質リン酸化制御に重要な働きを有することを窺わせた。また、多彩なドメイン構造を有する PRIP の多様な分子との結合はキナーゼ・ホスファターゼ・PRIP 複合体の時空間制御に役立つと考えられた。

一方、PRIP の遺伝子欠損 (KO) マウスではホルモンや神経伝達物質の分泌量が増加しており、PRIP は開口分泌に共通に働く膜融合装置 [SNARE と称される分子複合体 (syntaxin / VAMP / SNAP-25) や synaptotagmin] に対して抑制的に作用していることが明らかとなりつつあった。これらを併せて考えて、それまで詳細が明らかとなっていなかった開口分泌のリン酸化制御において、PRIP がキナーゼやホスファターゼを開口分泌の場に移行させることにより効率的なリン酸化制御を補助していることが予想された。

2. 研究の目的

本研究では、キナーゼ・ホスファターゼと複合体を形成する PRIP が開口分泌のリン酸化制御において果たす役割の解明を目指した。

3. 研究の方法

① 試験管内実験 (ホスファターゼ活性測定) : ホスホリラーゼキナーゼでリン酸化した [³²P]ホスホリラーゼ b を調製し、精製 PP1 や PP2A とのインキュベーションによって放出される放射活性を測定した。

② 試験管内実験 (結合実験) : GST 等のタグを付加した組換えタンパク質の精製標品を用いてプルダウン実験を行った。

③ 培養細胞を用いた結合実験 : 野生型や変

異型 PRIP を遺伝子導入した培養細胞の蛍光免疫染色や PLA (proximity ligation assay) によって PRIP と各種タンパク質との相互作用を検討した。

④ 野生型及び PRIP ノックアウトマウスの組織や培養細胞を用いた免疫沈降実験 (結合実験) : マウス個体や培養細胞の刺激時、無刺激時における PRIP とホスファターゼや SNARE 分子との結合を免疫沈降実験によって調べた。

⑤ 精製 SNARE タンパク質の複合体形成実験 : SNARE 分子は膜融合促進時に界面活性剤 SDS にも耐性な強固な複合体を形成することが知られる。精製組換え SNARE 分子群を用いて PRIP の影響を調べた。

⑥ 培養細胞を用いた開口分泌実験 : PC12 細胞を [³H]ノルアドレナリン (NA) で標識し、その放出を指標とした。

4. 研究成果

(1) 2つの異なるタンパク質ホスファターゼ PP1、PP2A の PRIP による調節機構

① 試験管内実験 : 大腸菌発現系にて調製した PP1、PP2A、PRIP 各組換えタンパク質を用いた。各タンパク質ホスファターゼ活性に与える PRIP の影響を調べたところ、PRIP は PP1 の活性を濃度依存的に抑制したが、PP2A のホスファターゼ活性には影響しなかった。また、PRIP と PP2A との結合には他のタンパク質が介在している可能性を否定できていなかったが、GST タグを付加した PRIP によるプルダウン実験によって PP1、PP2A とともに PRIP と直接結合することを確認した。PP1、PP2A が同時に存在する条件下でプルダウン実験を行い、PP1、PP2A の PRIP への同時結合性を調べたところ、両ホスファターゼの PRIP への結合は相互排他的だった。PRIP に様々な部位に部位特異的アミノ酸置換変異を導入して結合実験を行ったところ、PP1、PP2A との結合に直接関与する PRIP 上のアミノ酸は異なるものの非常に近接した領域に結合することが示され、相互排他的な結合を指示する結果を得た。PRIP の PP1 結合部位には PKA のリン酸化部位がある。PRIP の PKA によるリン酸化は PP1 との直接的な結合を抑制したが、PP2A の結合には影響しなかった。しかし、PP1 と PP2A が同時に存在する条件下では PKA によってリン酸化された PRIP に結合する PP1 は減少して、それに伴い PP2A の結合量が増加した。

② 培養細胞及びマウス個体を用いた実験 : 試験管内実験で明らかとなった PRIP と PP1、PP2A との関係を PRIP を外来性に発現させた COS-7 細胞を用い細胞レベルで検討した。フォルスコリン処理した細胞では抗 PRIP 抗体で免疫沈降した複合体に含まれる

PP1 の量が減少し、PP2A の量が増加した。このフォールスコリンの効果は PKA リン酸化部位にアミノ酸変異を導入すると消失した。さらに、マウス個体レベルでも PRIP と各ホスファターゼの関係が同様の調節を受けているか検討した。マウス脳組織を用いた免疫沈降実験では、イソプロテレノールを腹腔内投与することにより抗 PRIP 抗体免疫複合体に含まれる PP1 の量は減少し、それに伴い PP2A の量が増加し、試験管内実験及び培養細胞レベルで認めた PRIP と PP1 及び PP2A 結合量のリン酸化を介した調節機構が個体レベルでも存在することが確認された。

(2) PRIP がキナーゼ及びホスファターゼとの複合体として開口分泌の場に特異的に移行する機構

PRIP は C 末に開口分泌調節に関わる分子にも多く存在するタンパク質モジュール C2 ドメインを有するが、その機能は不明であった。C2 ドメインが PRIP による開口分泌調節に重要な役割を持つと考え以下の実験を行った。

① 多くの C2 ドメインは Ca^{2+} 依存的に細胞膜リン脂質と結合する。Lipid Overlay Assay により、大腸菌発現系で調製した PRIP の単離 C2 ドメインの脂質結合能を調べた。PRIP の C2 ドメインは検討した主要リン脂質には結合しなかった。

② 野生型及び PRIP ノックアウトマウスの脳組織を用いて抗 PRIP 抗体による免疫沈降実験を行った。野生型の組織では膜融合に必須の分子 syntaxin 1 及び SNAP-25 が PRIP 免疫複合体に含まれていたが、PRIP ノックアウトマウス由来の組織では含まれていなかった。さらに全長 PRIP、PRIP の C2 ドメイン欠失変異体、様々なタンパク質由来の C2 ドメイン及び syntaxin 1、SNAP-25 の組換えタンパク質を調製してプルダウンアッセイ法による結合実験を行った。全長 PRIP は SNAP-25 と syntaxin 1 のいずれとも結合したが、C2 ドメインを欠失した PRIP は結合しなかったこと、単離した C2 ドメインが全長と同様の結合能を示したことから、PRIP は C2 ドメインを介して、SNAP-25 と syntaxin 1 の両者と結合することがわかった。また、PRIP と SNAP-25、syntaxin 1 との結合は、これら SNARE 分子との結合が既に報告されている synaptotagmin や rabphilin などの他の C2 ドメインと同程度の親和性を有していた。膜タンパク質である SNARE 分子のより自然に近い状態をリン脂質リボソームを用いて再構成して行った結合実験でも同様に PRIP との C2 ドメインを介した結合を確認した。

③ 精製した組換えタンパク質を用いた実験で確認した PRIP と syntaxin 1、SNAP-25 との結合は細胞レベル、組織レベルでも存在す

ることを、培養細胞を用いた “proximity ligation assay”、免疫沈降法にて確認した。前者では PRIP と v-SNAREs の細胞内での結合には PRIP の C2 ドメインの存在に加えて、PRIP が PH ドメインの細胞膜リン脂質との結合を介して細胞まくに局在することが必要であることが分かった。また後者では PRIP ノックアウトマウス脳組織を用いて生体内でも PRIP と syntaxin、SNAP-25 が結合すること、さらに、PRIP 欠失組織中では synaptotagmin など、他の SNARE 結合性 C2 ドメインタンパク質と SNARE 分子との結合量の増加を認めたことから、PRIP は SNARE 分子との結合に関して他の SNARE 結合性タンパク質と競合的な関係にあることが示唆された。実際、精製組換えタンパク質を用いたプルダウン実験を行うと、SNAP-25 や syntaxin に対して PRIP は確かに他の SNARE 結合性 C2 ドメインタンパク質 synaptotagmin と競合的に結合していた。

④ PRIP はノックアウトマウスの表現型や培養細胞を用いた実験から、開口分泌を抑制的に調節することが示唆されている。SNARE 分子との結合が果たす役割を調べた。SNAP-25、syntaxin 1、VAMP-2 の三者は通常のタンパク質複合体を破壊する界面活性剤 SDS に耐性な強固なタンパク質複合体を形成し、その量は開口分泌の程度と正の相関を示すことが知られる。精製組換えタンパク質を用いた SNARE 複合体形成実験を行ったところ、PRIP は SNARE との結合を介して、この複合体形成を用量依存的に直接阻害したことから PRIP の開口分泌抑制作用の機序の一部を担っていると考えられた。

⑤ PRIP の開口分泌抑制作用における C2 ドメインの役割を確認するため、ノルアドレナリンを分泌する PC12 細胞株に PRIP の野生型と C2 ドメイン欠失変異体の遺伝子導入したもので高 K^{+} 刺激による放射標識ノルアドレナリン分泌を検討したところ、野生型 PRIP はノルアドレナリン放出を強く抑制したが、C2 ドメイン欠失変異体では開口分泌抑制効果が約半分に減弱していた。

(3) PRIP の C2 ドメインと他のタンパク質由来の C2 ドメインとの直接的な結合

様々な分子中に存在する C2 ドメインは分子間相互作用に関わるが、これまでは Ca^{2+} と細胞膜を構成するリン脂質、及び上記 (2) で示したような SNARE タンパク質等の結合と、一部の synaptotagmin の C2 ドメインにおけるホモダイマーの形成が報告されていた。今回、上述の一連の実験の過程で PRIP の C2 が synaptotagmin を始めとする他の分子の C2 ドメインとヘテロダイマーを形成することを新たに見出した。PRIP が主として開口分泌に関わる C2 ドメインタンパク質との直接的な相互作用を通

じて、それらタンパク質の標的分子との相互作用を修飾する機構の存在が示唆された。

以上(1)～(3)の結果から、PRIPの開口分泌が行われる局所に、膜脂質や膜融合促進装置(SNARE分子複合体やsynaptotagmin)との直接的な結合を介して特異的に移行し、SNARE複合体や膜融合促進分子の各分子間相互作用との拮抗により開口分泌を負に制御し、さらに細胞の活性化状態に応じて変化するPRIP自身のリン酸化が、結合する複数のホスファターゼの量や活性を調節することで、各結合分子のリン酸化状態を制御するという複数の作用点を介して開口分泌調節を修飾するモデルが想定される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計13件) 全ての論文に査読有り

- (1) Tsuka, S., Aonuma, F., Higashi, S., Ohsumi, T., Nagano, K., Mizokami, A., Kawakubo-Yasukochi, T., Masaki, C., Hosokawa, R. and Hirata, M. and Takeuchi, H.: Promotion of insulin-induced glucose uptake in C2C12 myotubes by osteocalcin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **459** (3), 437-442, 2015.
- (2) Nagano, K., Takeuchi, H., Gao, J., Mori, Y., Otani, T., Wang, D. and Hirata, M.: Tomosyn is a novel Akt substrate mediating insulin-dependent GLUT4 exocytosis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **62**, 62-71, 2015.
- (3) Otani, T., Mizokami, A., Hayashi, Y., Gao, J., Mori, Y., Nakamura, S., Takeuchi, H. and Hirata, M.: Signaling pathway for adiponectin expression in adipocytes by osteocalcin. *Cell Signal.* **27** (3), 532-544, 2015.
- (4) Wang, D., Takeuchi, H., Gao, J., Zhang, Z. and Hirata, M.: Hetero-oligomerization of C2 domains of phospholipase C-related but catalytically inactive protein and synaptotagmin-1. *Adv. Biol. Regul.* **57**, 120-129, 2015. doi: 10.1016/j.jbior.2014.09.001.
- (5) Mizokami, A., Yasutake, Y., Higashi, S., Kawakubo-Yasukochi, T., Chishaki, S., Takahashi, I., Takeuchi, H. and Hirata, M.: Oral administration of osteocalcin improves glucose utilization by stimulating glucagon-like peptide-1 secretion. *Bone* **69**, 68-79, 2014.
- (6) Hirata-Tsuchiya, S., Fukushima, H., Katagiri, T., Ohte, S., Shin, M., Nagano, K., Aoki, K., Morotomi, T., Sugiyama, G., Nakatomi, C., Kokabu, S., Doi, T., Takeuchi, H., Ohya, K., Terashita, M., Hirata, M., Kitamura, C. and Jimi E.: Inhibition of BMP2-induced bone formation by the p65 subunit of NF- κ B via an interaction with Smad4. *Mol. Endocrinol.* **28**, 1460-70, 2014.
- (7) Sugiyama, G., Takeuchi, H., Kanematsu, T., Gao, J., Matsuda, M. and Hirata, M.: Phospholipase C-related but catalytically inactive protein, PRIP as a scaffolding protein for phosphor-regulation. *Adv. Biol. Regul.* **53**, 331-340, 2013.
- (8) Mizokami, A., Yasutake, Y., Gao, J., Matsuda, M., Takahashi, I. and Takeuchi, H. and Hirata, M.: Osteocalcin induces release of Glucagon-like peptide-1 and thereby stimulates insulin secretion in mice. *PLOS ONE* **8**, e57375, 2013.
- (9) Umabayashi, H., Mizokami, A., Matsuda, M., Harada, K., Takeuchi, H., Tanida, I., Hirata, M. and Kanematsu, T. Phospholipase C-related catalytically inactive protein, a novel microtubule-associated protein 1 light chain 3-binding protein, negatively regulates autophagosome formation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **432**, 268-274, 2013.
- (10) Zhang, Z., Takeuchi, H., Gao, J., Wang, D., James, D.J., Martin, T.F. and Hirata, M.: PRIP (phospholipase C-related but catalytically inactive protein) inhibits exocytosis by direct interactions with syntaxin 1 and SNAP-25 through its C2 domain. *J. Biol. Chem.* **288**, 7769-7780, 2013.
- (11) Sugiyama, G., Takeuchi, H., Nagano, K., Gao, J., Ohyama, Y., Mori, Y. and Hirata, M.: Regulated interaction of protein phosphatase 1 and protein phosphatase 2A with phospholipase C-related but catalytically inactive protein. *Biochemistry* **51**, 3394-3403, 2012.
- (12) Gao, J., Takeuchi, H., Zhang, Z., Fukuda, M. and Hirata, M.: Phospholipase C-related but catalytically inactive protein (PRIP) modulates synaptosomal associated protein 25 (SNAP-25) phosphorylation and exocytosis. *J. Biol. Chem.* **287**, 105650-10578, 2012.
- (13) Takeuchi, H., Zhang, Z., Gao, J., Sugiyama, G., Takeuchi, T. and Hirata, M.: Second basic pockets contribute to the localization of PX domains by binding to phosphatidic acid. *Adv. Biol. Regul.* **52**, 183-194, 2012.

[学会発表] (計41件) 主要なもののみ記載

- (1) Wang, D., Takeuchi, H., Gao, J., Zhang, Z., Hirata, M.: Hetero-oligomerization of C2 domains of phospholipase C-related but

- catalytically inactive protein and synaptotagmin-1. Kyudai Oral Bioscience 2015 -9th International Symposium-, Fukuoka, February 28, 2015.
- (2) Tsuka, S., Aonuma, F., Hosokawa, R., Hirata, M. and Takeuchi, H.: Osteocalcin modifies insulin-induced glucose-uptake in cultured myotube. APC2015 北九州市 2015年1月24日
- (3) 柄慎太郎、青沼史子、細川隆司、東泉、大住伴子、平田雅人、竹内弘: 培養筋芽細胞を用いたオステオカルシンによる血糖調節修飾作用の検討 第67回日本薬理学会西南部会 北九州市 2014年11月23日
- (4) Gao, J., Takeuchi, H., Wang D. and Hirata, M.: Phosphorylation of SNAP-25 by protein kinase-A is negatively involved in calcium-dependent exocytosis in PC12 cells. 第87回日本生化学会大会 京都市 2014年10月15日~18日
- (5) Wang, D., Takeuchi, H., Gao, J. and Hirata, M.: Interaction of the C2 domains from different molecules. 第87回日本生化学会大会 京都市 2014年10月15日~18日
- (6) Nagano, K., Takeuchi, H., Gao, J., Otani, T. and Hirata, M.: Involvement of tomosyn in insulin-dependent GLUT4 exocytosis as an Akt-substrate, 39th Hormone and Cell Regulation, Mont Sainte Odile, France, October 9-12, 2014.
- (7) 柄慎太郎、青沼史子、細川隆司、平田雅人、竹内弘: 骨格筋に対するオステオカルシンの効果について、第56回歯科基礎医学会学術大会、福岡市、2014年9月25-27日
- (8) 東泉、溝上顕子、大住伴子、平田雅人、竹内弘: オステオカルシン受容体候補タンパク質 GPRC6A の免疫組織学的解析 第56回歯科基礎医学会学術大会、福岡市、2014年9月25-27日
- (9) 溝上顕子、安武雄、東泉、川久保-安河内友世、高橋一郎、竹内弘、平田雅人: オステオカルシン経口投与時の体内動態と糖代謝への作用 第56回歯科基礎医学会学術大会、福岡市、2014年9月25-27日
- (10) 柄慎太郎、青沼史子、細川隆司、竹内弘: 筋管細胞の糖取り込みにおけるオステオカルシンの影響、第44回日本口腔インプラント学会学術大会、東京都、2014年9月12-14日
- (11) Tsuka, S., Aonuma, F., Hosokawa, R., Hirata, M. and Takeuchi, H.: Effect of osteocalcin on skeletal muscle cells. IADR General Session, Capetown, South Africa, June 25-28, 2014.
- (12) Higashi, S., Mizokami, A., Ohsumi, T., Hirata, M. and Takeuchi, H.: Localization of GPRC6A, the receptor involved in glucose homeostasis. The 87th Annual Meeting of The Japanese Pharmacological Society. Sendai, March 19-21, 2014.
- (13) Higashi, S., Mizokami, A., Ohsumi, T., Hirata, M. and Takeuchi, H.: Immunohistochemical analysis of a putative osteocalcin receptor involved in glucose homeostasis. ASIA-PACIFIC CONFERENCE in FUKUOKA 2014, Kitakyushu, January 25, 2014.
- (14) Nagano, K., Takeuchi, H., Gao, J., Otani, T. and Hirata, M.: Phosphorylation of tomosyn by Akt is implicated in the regulation of GLUT4 translocation. The 8th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, Fukuoka, November 7-8, 2013
- (15) Otani, T., Takeuchi, T., Mizokami, A., Nagano, K., Gao, J. and Hirata, M.: Functional regulation of adipocytes by osteocalcin. The 8th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists, Fukuoka, November 7-8, 2013
- (16) Mizokami, A., Yasutake, Y., Gao, J., Takeuchi, H. and Hirata, M.: Osteocalcin induces release of glucagon-like peptide-1 and improves metabolic state in mice. The 8th Japan-Korea Conference on Cellular Signaling for Young Scientists - The Rising Sun Session -Fukuoka, November 7-8, 2013.
- (17) 長野公喜、竹内弘、杉山悟郎、大谷崇仁、平田雅人: GLUT4 トランスロケーションにおける Akt による tomosyn のリン酸化の影響。第55回歯科基礎医学会学術大会 岡山市 2013年9月20~22日
- (18) 杉山悟郎、竹内弘、長野公喜、大谷崇仁、平田雅人: Molecular characterization of PRIP as an adaptor protein of Akt. 第55回歯科基礎医学会学術大会 岡山市 2013年9月20~22日
- (19) 竹内弘、杉山悟郎、長野公喜、大谷崇仁、高靖、平田雅人: Analysis of regulated interaction between Akt and PRIP. 第86回日本生化学会大会 横浜市 2013年9月11~13日
- (20) 長野公喜、竹内弘、高靖、杉山悟郎、大谷崇仁、平田雅人: Akt による開口分泌調節タンパク質 tomosyn のリン酸化の検討。第86回日本生化学会大会 横浜市 2013年9月11~13日
- (21) 大谷崇仁、竹内弘、長野公喜、高靖、杉山悟郎、溝上顕子、平田雅人: 脂肪細胞に及ぼすオステオカルシンの効果に関する検討。第86回日本生化学会大会 横浜市 2013年9月11~13日
- (22) Gao, J., Takeuchi, H., Wang, D. and Hirata, M.: Differential role of SNAP-25

- phosphorylation by protein kinase A and C in SNARE complex formation. 第 86 回 日本生化学会大会 横浜市 2013 年 9 月 11~13 日
- (23) Takeuchi, H., Zhang, Z., Gao, J., Wang, DG. and Hirata, M.: Involvement of Phospholipase C-related but catalytically inactive protein in regulated exocytosis through the pleckstrin homology and the C2 domains. EB2013, Boston, MA, USA, April 20-24, 2013.
- (24) Nagano, K., Takeuchi, H., Sugiyama, G., Gao, J., Otani, T. and Hirata, M.: Identification of tomosyn as a new downstream target of Akt. EB2013, Boston, MA, USA, April 20-24, 2013.
- (25) Sugiyama, G., Nagano, K., Otani, T., Gao, J., Takeuchi, T. and Hirata, M.: Phosphorylation-dependent interaction of PRIP with Akt. EB2013, Boston, MA, USA, April 20-24, 2013.
- (26) Morita, H., Yoshimoto, S., Takeuchi, H., Abe, K., Hirata, M. and Ito Y.: Intracellular ATP modulates vascular distinctive P2X receptors in rat arterial smooth muscle. EB2013, Boston, MA, USA, April 20-24, 2013.
- (27) Takeuchi, H., Zhang, Z., Gao, J., Wang, D. and Hirata, M.: Negative regulation of exocytosis by PRIP through intermolecular interactions. 第 86 回日本薬理学会年会 福岡市 2013 年 3 月 21~23 日
- (28) Otani, T., Takeuchi, H., Nagano, K., Sugiyama, G., Gao, J. and Hirata, M.: Osteocalcin promotes phosphorylation and expression of peroxisome proliferator-activated receptor γ . International Symposium on Human Resource Development towards Global Initiative, Cha-am, Thailand, Feb. 16th - 17th, 2013
- (29) Zhao Zhang, Hiroshi Takeuchi, Jing Gao, Daguang Wang and Masato Hirata: Regulation of Phospholipase C-related but Catalytically Inactive Protein in Exocytosis by Direct Interaction with Syntaxin 1 and SNAP-25. International Symposium on Human Resource Development towards Global Initiative, Cha-am, Thailand, Feb. 16th - 17th, 2013
- (30) Hiroshi Takeuchi, Akiko Mizokami, Yu Yasutake, Jing Gao and Masato Hirata: The link between bone, gut and glucose metabolism. Asia-Pacific Conference in Fukuoka 2012, Fukuoka, Japan, Jan. 26th, 2013
- (31) Zhang, Z., Takeuchi, H., Gao, J. and Hirata, M.: Direct interaction of phospholipase C-related but catalytically inactive protein with syntaxin 1A and SNAP25 through C2 domain. 22nd IUBMB & 37th FEBS

Congress, Sevilla, Spain, September 4-9, 2012.

- (32) Gao, J., Takeuchi, H. and Hirata, M.: Role of phosphorylation of SNAP-25 by protein kinase A on SNARE complex formation. 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress, Sevilla, Spain, September 4-9, 2012.
- (33) Yasutake, Y., Mizokami, A., Takeuchi, H. and Hirata, M.: Roles of bone-derived osteocalcin as a glp-1 secretagogue. 22nd IUBMB & 37th FEBS Congress, Sevilla, Spain, September 4-9, 2012.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

http://www.kyu-dent.ac.jp/research/lecture/oral_pharmacological

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹内 弘 (HIROSHI TAKEUCHI)

九州歯科大学・歯学部・教授

研究者番号：70304813

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

高 靖 (JING GAO)

九州大学・大学院歯学研究院・助教

研究者番号：40585882

(4) 研究協力者 (大学院生)

張 釗 (ZHAO ZHANG)

長野公喜 (KOKI NAGANO)

王大光 (DAGUANG WANG)