

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：32661

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07948

研究課題名(和文) DNA複製開始制御の破綻に伴うゲノム構造不安定化と、その防御機構に関する研究

研究課題名(英文) Study on the degeneration of genome structure caused by dyscontrol of DNA replication initiation and the mechanisms to defense it

研究代表者

多田 周右 (TADA, Shusuke)

東邦大学・薬学部・教授

研究者番号：00216970

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに、DNA複製時の新生鎖伸長反応を抑制する作用がCdt1に存在することを示してきたが、この作用について、Cdt1のライセンス化活性とは独立に引き起こされること、添加したCdt1によるDNA再複製の誘発は必要ないこと、を示唆する結果を新たに得た。さらに、培養細胞でのCdt1過剰発現によるDNA再複製に対し、RecQヘリカーゼであるブルーム症候群原因遺伝子産物BLMやRecQ5が抑制的に機能する可能性を見出した。また、RecQ4については、そのN末側領域がDNA二本鎖切断部位へのKu70/Ku80複合体の結合を阻害し、非同相末端結合修復を抑制する可能性を見出した。

研究成果の概要(英文)：In this research, we explored how functions of Cdt1 and RecQ4, proteins known to play essential roles in DNA replication initiation, give influences on cellular mechanisms to maintain the genome stability. Previously, we have shown that Cdt1 suppresses nascent strand elongation during DNA replication. In this research, we newly obtained results suggesting that this effect is independent of the licensing activity of Cdt1 and does not need re-replication induced by additive Cdt1. Moreover, we showed that BLM, a product of a gene which mutation causes Bloom syndrome, and RecQ5 possibly suppresses severe effects of re-replication due to over expression of Cdt1 in cultured cells. For RecQ4, our results indicate that its N-terminal region inhibits Ku70/80 to bind DNA double strand break sites, and suppresses non-homologous end joining in cell free extracts.

研究分野：生物系薬学

キーワード：Cdt1 RecQ4 DNA複製 ゲノム安定性維持 新生鎖伸長反応 BLM 非同相末端結合修復

## 1. 研究開始当初の背景

DNA は種々の攻撃に対して遺伝情報を正確に保持できるようにきわめて高度に保護されているが、DNA が関与する様々な代謝経路の中では DNA に蓄えられている遺伝情報の読み出しなどのために DNA の高度な保護を外す必要に迫られる過程も数多く存在する。DNA 複製の過程では相補鎖との解離やクロマチン構造の変換などに応じて物理的なひずみ・ねじれなどが生じることにより DNA の構造がもろくなり、様々な DNA 傷害誘発作用に対して特に高い感受性を示すことが予想される。また、DNA 複製装置が鋳型 DNA 上の異常に遭遇することにより、DNA 複製停止や DNA 鎖切断などに起因する遺伝情報の不安定化が引き起こされる。

ロスモンド-トムソン症候群 (RTS) は多形皮膚萎縮症や骨形成異常のほか、若年性白内障などの早期老化症状、高頻度の骨肉腫の発症などを特徴とする常染色体劣性遺伝病である。1999 年、Kitao らにより RecQ4 の変異がこの遺伝病の原因となることが報告された。RecQ4 は、原核生物から脊椎動物まで幅広い生物種でゲノム安定性維持に中心的な役割を持つ RecQ ファミリー DNA ヘリカーゼのひとつである。この RecQ4 は、その後、DNA 複製開始の過程に必須の役割を果たすことが示された。このような細胞増殖に不可欠の機能が遺伝病の原因となることは考え難い。RTS の原因となる RecQ4 の変異点が DNA 複製開始に必須とされる領域とは異なる部分に集中しているため、RecQ4 には DNA 複製開始に必須な機能以外にも何らかの役割が存在しており、その異常が RTS の病態をもたらすことが推察される。すなわち、RecQ4 が DNA 複製開始とゲノム安定性維持の二つの機能をつかさどる重要な接点に位置していることは十分に予想される。以上のような観点から、RecQ4 の機能を詳細に理解することはきわめて興味深い。本研究の開始時には、DNA 複製開始に直接的に関わる機能以外には、DNA 組換え修復で中心的な働きをする RAD51 や種々の修復経路で機能する poly-(ADP-ribose) polymerase との相互作用などが断片的に記述されているのみであり、RTS の病態に関わる RecQ4 の機能についての理解はほとんど進んでいなかった。

DNA 複製開始は複製起点での複製前複合体 (pre-RC) の構築から始まるが、この段階は種々の細胞周期調節機構の主要な標的となっており、その破綻ががん細胞で見られる遺伝子の重複やゲノム倍数性の増大などのゲノム構造異常の一因となると考えられる。確かに、多くのがん細胞で pre-RC 構築に関わる Cdt1、Cdc6 や Mcm2-7 複合体のサブユニットの発現が極めて高いことが度々指摘されていることに加え、Cdt1 や Cdc6 の機能を人為的操作により亢進させることで、多重 DNA 複製が引き起こされることも多くの研究者により報告されている。

本研究の研究代表者は、上に掲げた RecQ4、Cdt1 を中心として、DNA 複製開始機構とゲノム安定性維持機構との連携に関する研究を進めている。アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) 卵抽

出液を用いた無細胞実験系は、多くのタンパク質の機能が複雑に連携して進行する細胞周期を再現できる実験系であり、これまでに本研究代表者は、この実験系を利用した DNA 複製開始制御機構の解析に携わってきた。その成果として、本研究代表者らは、Cdt1 が DNA 複製の新生鎖伸長反応を抑止する作用を持つことを見出してきた。また、同様の無細胞実験系や各種の遺伝子を標的破壊した培養細胞を利用して RecQ4 の機能に関する解析もおこなっており、RecQ4 が DNA 二本鎖切断修復に関与すること、RecQ4 の N 末側部分が細胞増殖に必須であることなどを報告した。

## 2. 研究の目的

上記の学術的背景とこれまでの研究成果を踏まえ、本研究では、

- 1) 「Cdt1 の亢進による DNA 複製開始制御の破綻が、結果的に無秩序な DNA 複製を抑制しゲノム安定性維持に貢献する」という視点から DNA 複製の制御を捉えなおすこと
- 2) DNA 複製開始に働く RecQ4 の機能とゲノム安定性維持機構との間の連携を探ること

の2点を目標とし、これまでの生化学的解析の発展を図るとともに、培養細胞の遺伝子操作などによる細胞生物学的解析にもさらに積極的に携わり、両者を密接に組み合わせながら研究を進展させることを計画する。最終的にはこれらの解析から得られる成果を統合したうえで、DNA 複製開始機構とゲノム安定性維持機構の連携の一端を分子レベルから明らかにすることを目指した。

## 3. 研究の方法

*Xenopus* 卵抽出液は DNA 分裂中期に高度に同調されており、種々の細胞周期阻害剤・阻害タンパク質の導入などにより、DNA 複製の諸段階を高精度に操作し、生化学的に解析することができる無細胞実験系を提供する。また、培養細胞を用いた解析のため、ニワトリ B 細胞由来 DT40 細胞より各種のゲノム安定性維持機構関連遺伝子欠損株を樹立しており、これらの遺伝子破壊細胞株での検討もおこなうことで、詳細な細胞生物学的解析が容易になると考えられる。本研究では、これらを活用して解析を進めた。

- (1) DNA 複製における新生鎖伸長反応の抑止に関わる Cdt1 の機能領域に関する解析

Cdt1 の各種変異体型タンパク質は、pGEX6P-3 に目的のタンパク質をコードする cDNA を組み込んだのちに大腸菌に導入し、GST 融合組換えタンパク質として発現させた。精製には Glutathion Sepharose 4B を使い、PreScission Protease で GST を切除することにより Cdt1 組換えタンパク質をカラムより溶出した。

*Xenopus* 卵抽出液からの Cdt1 除去処理は以下の通り行った。rProtein A-Sepharose Fast Flow (GE healthcare) に anti-*Xenopus* Cdt1 antibody を結合させたのちに、*Xenopus* 卵抽出液を加え、

Sephrose レジン除去することにより、Cdt1 免疫除去卵抽出液を得た。また、非特異的抗体を用いて同様の操作を行ったものを mock 処理卵抽出液とした。

*Xenopus* 卵抽出液での DNA 複製反応は以下の条件でおこなった。*Xenopus* 精子核 DNA (1,000 nuclei/ $\mu$ l) および 5 mM phosphocreatine、25  $\mu$ g/ml creatin phosphokinase、250  $\mu$ g/ml cycloheximide を卵抽出液に添加し、23°C 下において指定した条件で反応させた。DNA 複製および新生鎖伸長反応の測定では、DNA 複製反応時に 0.8 nM biotin-14-dATP を反応液に添加した。反応後、DNA への biotin の取り込みを測定し、これを DNA 複製活性とした。また、新生鎖伸長反応の測定では、アルカリアゲル電気泳動で DNA を分離したのちにナイロン膜に転写し、新生 DNA 鎖に取り込まれた biotin を、streptavidine により検出した。

DNA 複製ライセンス化活性の測定では、卵抽出液と精子核 DNA との反応を 40 分間おこなった後に反応液からクロマチン画分を単離し、western blotting により Mcm4 のクロマチン結合を検出した。

#### (2) Cdt1 の過剰発現により誘発される DNA 再複製に対して機能する BLM および RecQ5 の働きに関する解析

ニワトリ DT40 細胞にヒト Cdt1 (hCdt1) を発現させるためには、テトラサイクリンの結合で活性化するトランスアクチベーターで誘導されるプロモーターの支配下に外来遺伝子の発現をおこなう Tet-On System を利用することとした。pTetOne バクターは、外来遺伝子とともにトランスアクチベーターの発現も行わせるプラスミドであり、これに hCDT1 の cDNA を挿入して hCDT1 発現プラスミドを得た。このとき、pTetOne バクターのマルチクローニングサイトにはあらかじめ 2 つの FLAG タグと SV40 由来核移行シグナル (NLS) を付加しており、hCdt1 は N 末端側に 2 $\times$ FLAG タグと NLS を融合したタンパク質として発現する。

DT40 細胞の野生株、RecQ ヘリカーゼの一種である BLM の遺伝子を欠損した遺伝子破壊株 (*BLM*<sup>-/-</sup>)、さらに別の種類の RecQ ヘリカーゼである RecQ5 の遺伝子破壊株 (*RecQ5*<sup>-/-</sup>) に、構築した *hCDT1/pTetOne* 発現プラスミドをピューロマイシン耐性遺伝子とともに導入した。これらの細胞に対して、ピューロマイシン耐性を指標として一次スクリーニングをおこなったのちに、テトラサイクリンよりも安定な誘導体であるドキシサイクリンの処理 (終濃度 1  $\mu$ g/ml) によって hCdt1 の発現が誘導される安定遺伝子導入株を選択した。得られた細胞株を用いて、hCdt1 を強制発現させたときの細胞周期の動態について、フローサイトメトリーにより解析した。

#### (3) 非相同末端結合修復における RecQ4 の機能に関する生化学的解析

非相同末端結合による修復効率を評価するため、線状の DNA を *Xenopus* 卵抽出液に添加し、

末端同士が融合して環状化される効率を、環状化したときのみ増幅可能なプライマーのペアを利用した PCR により評価した。同時に、線状 DNA の状態でも増幅可能な領域を増幅させるような PCR もおこない、ポジティブコントロールとした。

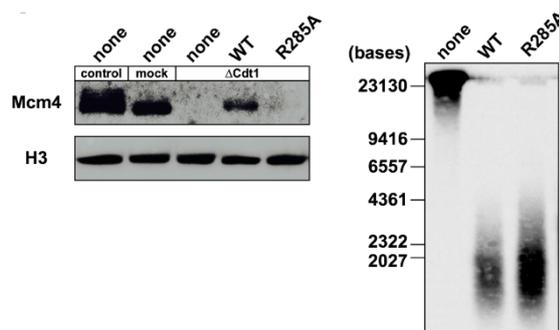
DNA 二本鎖切断における Ku70/Ku80 複合体のクロマチン結合については、以下の通りの方法で検出した。geminin で DNA 複製を抑制した *Xenopus* 卵抽出液に精子核 DNA と制限酵素 EcoRI を加え、23°C で 60 分間反応させた。反応後、卵抽出液からクロマチン画分を単離し、クロマチン画分中の Ku70 を western blotting により検出した。

### 4. 研究成果

#### (1) Cdt1 の DNA 複製における新生鎖伸長抑制活性に関する解析

Cdt1 を添加した *Xenopus* 卵抽出液で DNA 複製時の新生鎖伸長反応の抑制による短鎖の新生 DNA 鎖の蓄積が観察されている。まず、この Cdt1 の活性に関与する機能に関与する領域の絞り込みを試みた。これまでの Cdt1 欠失変異体組換えタンパク質による解析より、Cdt1 の 254-289 アミノ酸領域に DNA 複製の抑制に必要な機能が存在することが示唆されている。そこで、この領域に位置し、DNA 複製ライセンス化活性に重要な役割を果たすことが示されている 285 番目のアルギニン残基をアラニンに変換したアミノ酸置換変異体 (Cdt1 R285A) を作製し、この変異体の新生鎖伸長抑制活性について検討した (図1)。

図1 Cdt1 R285A の DNA 複製ライセンス化活性 (左) と新生鎖伸長抑制活性 (右)



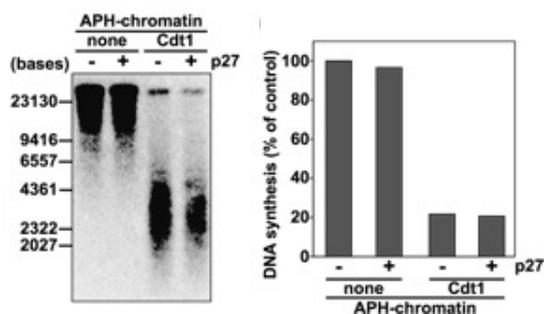
その結果、Cdt1 R285A は DNA 複製ライセンス化に関わる Mcm4 のクロマチン結合を起こすことができないにもかかわらず、野生型 Cdt1 と同等の新生鎖伸長抑制活性を有することが示された。この結果は、Cdt1 による DNA 複製ライセンス化反応と新生鎖伸長抑制が、同じ生化学的活性に起因するものではなく、Cdt1 が DNA 複製ライセンス化以外の生化学的機能を有していることを示しているものと考えている。

次いで、野生型 Cdt1 を添加した卵抽出液では、Cdt1 のライセンス化活性によって過剰な DNA 複製開始反応が生じていることが推測されたため、

Cdt1 の添加により引き起こされる過剰な DNA 複製開始反応が Cdt1 の新生鎖伸長抑制作用に寄与しているかについて検討をおこなうため、aphidicoic acid (APH)-クロマチンを用いて Cdt1 の新生鎖伸長抑制作用に対する過剰な DNA 複製の影響を解析した。

DNA ポリメラーゼ阻害剤 aphidicolin は、DNA ポリメラーゼを阻害することで複製フォークを停止させ、DNA 複製を抑制する。また、p27 は DNA 複製開始反応に必須な cyclin-dependent kinase (CDK) 活性を阻害するため、卵抽出液における DNA 複製開始を阻害する。精子核 DNA および aphidicolin を添加し DNA 複製開始反応を完了させた卵抽出液からクロマチンを単離することで、新生鎖伸長反応が開始した段階で、複製フォークが停止したクロマチン (APH-クロマチン) を調製した。この APH-クロマチンを p27 および Cdt1 を添加した卵抽出液に戻して DNA 複製を再開させた。これにより、添加した Cdt1 による過剰な DNA 複製が生じない条件下で、APH-クロマチン上の複製フォークに対する Cdt1 の影響を観察した (図2)。

図2 APH-クロマチンを用いた DNA 複製反応に対する Cdt1 添加の影響



Cdt1 を添加していない卵抽出液 (none) では、新生 DNA 鎖の泳動像および DNA 合成量に対する p27 の影響は確認されなかった。また、Cdt1 を添加した卵抽出液においては、これまでと同様に短鎖の新生 DNA 鎖が観察されたが、p27 の添加によってわずかに短鎖 DNA のバンドが減少したものの、新生鎖の合成量や長さに明らかな変化はみられなかった。このことから、Cdt1 の新生鎖伸長抑制作用には、添加した Cdt1 により誘起される過剰な DNA 複製は寄与していないことが示唆された。

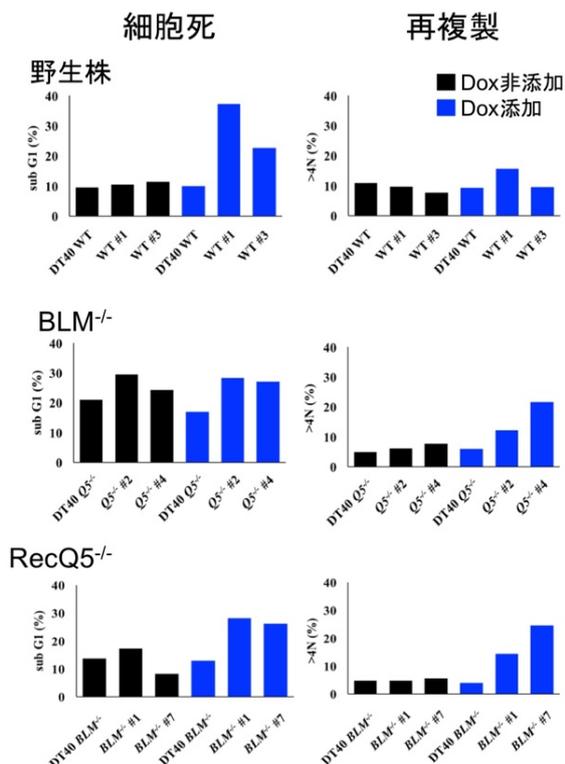
(2) Cdt1 の過剰発現により誘発される DNA 再複製に対して機能する BLM および RecQ5 の働きに関する解析

Cdt1 の機能の異常亢進はゲノム DNA の再複製を誘発するが、このような DNA の再複製が DNA 二本鎖切断を引き起こすことが推測される。そこで、相同組換え機構により DNA 複製の障害を回避する過程に関わることが予想される BLM (RecQ2) と RecQ5 に着目し、Cdt1 の過剰発現に伴う BLM と RecQ5 の働きについて検討した。ヒト Cdt1 (hCdt1) cDNA を、ニワトリ DT40 細胞遺

伝子破壊株 (*BLM*<sup>-/-</sup> および *RecQ5*<sup>-/-</sup>) に安定導入することにより、細胞内で hCdt1 を強制発現させた。これにより再複製を誘発し、このときの細胞周期の動態について解析した。

DT40 細胞株にテトラサイクリン誘導型プロモーター (Tet-On) の支配下に hCdt1 cDNA を導入し、ドキシサイクリン (Dox) 添加によって hCdt1 を強制発現させ、細胞周期の動態をフローサイトメトリーにより検討した (図3)。

図3 Cdt1 の強制発現による *BLM*<sup>-/-</sup>、*RecQ5*<sup>-/-</sup> 各細胞株の細胞死と DNA 再複製の検討



その結果、細胞死によるものと考えられる 2N 以下の DNA 含量を有する細胞 (sub G1) と、再複製によるものと考えられる 4N 以上の DNA 含量を示す細胞 (> 4N) の増加が観察された。また、hCdt1 の強制発現によりヒストン H2AX のリン酸化が強く検出された。したがって、DT40 細胞における hCdt1 の強制発現が、再複製と DNA 二本鎖切断を誘発することが示唆された。

さらに、*BLM*<sup>-/-</sup> と *RecQ5*<sup>-/-</sup> では野生株と比較して、hCdt1 の強制発現による再複製が多く観察される傾向があった。これは、BLM と RecQ5 がいずれも、大腸菌からヒトまで高度に保存され異常な DNA 構造に対して機能することが知られている RecQ ヘリカーゼファミリーの一員であることを考慮すると、DNA 再複製に起因する異常な DNA 構造を細胞内で処理する際に BLM や RecQ5 が何らかの役割を果たしている可能性を示唆するものであると考えられる。

(3) 非相同末端結合修復における RecQ4 の機能に関する生化学的検討

電離放射線やがん化学療法剤などによって誘

発される DNA 二本鎖切断は最も重篤な DNA 損傷であり、修復がおこなわれないと染色体構造異常や細胞死を招く。DNA 二本鎖切断の修復経路の一つに非相同末端結合 (NHEJ) があり、DNA の切断末端に種々のタンパク質が集積して末端同士を直接連結することにより修復がおこなわれる。

RecQ4 は、DNA 二本鎖切断修復において機能することが示唆されているが、その機能の詳細についてはほとんど明らかとなっていない。そこで、*Xenopus* 卵抽出液に線状化した DNA を添加し、PCR 法によって末端結合による環状化反応を評価する実験系を構築し、この実験系を用いて RecQ4 の寄与について検討した。ここで見られた線状 DNA の環状化反応は、NHEJ に関与することが知られる DNA 依存性プロテインキナーゼの阻害剤である Wortmannin や NU7441 に感受性を示したことから、この反応に NHEJ が大きく寄与することが示唆された。次に、ヘリカーゼ領域を除いた RecQL4 の N 末端領域 (Q4 N598) の組換えタンパク質を作製し、卵抽出液中での NHEJ 活性への影響について検討した。その結果、線状 DNA の環状化反応に対する抑制作用が観察された (図4)。

図4 *Xenopus* 卵抽出液における DNA 末端結合反応に対する RecQ4 N 末領域の影響

Template	環状	線状DNA + 環状化反応 (60 min)					
		-	+	+	+	+	
<i>Xenopus</i> egg extracts	+	-	+	+	+	+	
Q4 N598 (nM)	-	-	-	61.5	125	250	500
Assay							
Control							

また、卵抽出液中で制限酵素によってクロマチン中の DNA を切断すると、NHEJ の初期段階で機能する Ku70/Ku80 複合体のクロマチン結合が観察されるが、今回用いた N 末側領域を共存させると、この条件での Ku70/Ku80 のクロマチン結合が阻害されることも確認できた。

この結果から、RecQ4 の N 末側領域に NHEJ に関与する機能が存在すると考えられたが、RecQ4 のヘリカーゼ活性部位が欠損すると Ku70/Ku80 複合体の DNA 二本鎖切断部位への結合を阻害し、NHEJ を抑制することが示唆された。

## 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 2 件)

① Nakazaki, Y., Tsuyama, T., Azuma Y., Takahashi, M., Tada, S. Mutant analysis of Cdt1's function in suppressing nascent strand elongation during DNA replication in *Xenopus* egg extracts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (査読有) 2017, 490, 1375-1380.

doi: 10.1016/j.bbrc.2017.07.034.

② Nakazaki, Y., Tsuyama, T., Seki, M., Takahashi, M., Enomoto, T., Tada, S. Excess Cdt1 inhibits nascent strand elongation by repressing the progression of replication forks in *Xenopus* egg extracts. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (査読有) 2016, 470, 405-410.

doi: 10.1016/j.bbrc.2016.01.028.

[学会発表](計 15 件)

① 濱中汐里、外山雄基、佐々木良輔、津山崇、東祐太郎、多田周右. 非相同末端結合修復における RecQ4 の機能の解析. 日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 26 日、もてなしドーム地下イベント広場 (石川県金沢市)

② 高島史帆、木村沙織、東祐太郎、津山崇、多田周右. アポトーシス誘発により増加する Lewis 型糖鎖の細胞貪食における役割とホスファチジルセリンとの関係. 日本薬学会第 138 年会、2018 年 3 月 26 日、もてなしドーム地下イベント広場 (石川県金沢市)

③ 東祐太郎、江野澤瞳、津山崇、多田周右. O-GlcNAc 修飾タンパク質による ICER II の増加を介したアポトーシスの亢進作用. 2017 年度 生命科学系学会合同年次大会 (ConBio2017) 2017 年 12 月 7 日、神戸ポートアイランド (兵庫県神戸市)

④ 後藤勇貴、井堀康太、山内直之、森洋介、中崎祐太、津山崇、東祐太郎、多田周右. DNA 複製阻害タンパク質 Geminin の構造と機能に関する解析. 日本薬学会第 137 年会、2017 年 3 月 25 日、仙台国際センター (宮城県仙台市)

⑤ 中崎祐太、津山崇、東祐太郎、高橋美樹子、多田周右. アフリカツメガエル卵抽出液を用いた DNA 複製における Cdt1 の新生鎖伸長抑制作用のメカニズムの解析. 第 39 回日本分子生物学会年会、2016 年 12 月 2 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑥ 伊藤篤志、東祐太郎、大岩靖、秋谷美江、津山崇、多田周右. 細胞内タンパク質の O-GlcNAc 修飾による bcl-2、bax の変化とアポトーシスへの影響. 第 60 回日本薬学会関東支部大会、2016 年 9 月 17 日、東京大学 (東京都文京区)

⑦ 中崎祐太、津山崇、東祐太郎、高橋美樹子、多田周右. 新生鎖伸長反応の抑制に関与する Cdt1 の機能領域とその作用機序に関する検討. 日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑧ 津山崇、中崎祐太、東祐太郎、多田周右. DNA 複製ライセンス化機構におけるタンパク質の解析. 日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)

⑨ 道工怜子、東祐太郎、多田周右. 抗がん剤により細胞表面 CRT が増加した細胞に対する TSP1 結合の解析. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑩ 秋谷美江、桜井美杏、東祐太郎、多田周右. 細胞内タンパク質の O-GlcNAc 修飾によるアポトーシスの亢進とその機構の解析. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑪ 高石慶吾、木内章人、東祐太郎、小林芳郎、多田周右. アポトーシスを誘発したがん細胞株の貪食解析法の検討. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑫ 大岩靖、君塚舜、東祐太郎、多田周右. 高濃度グルコース培養による bcl2 を介したアポトーシスの亢進とその機構の解析. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑬ 佐藤達人、鈴木賢一、東祐太郎、多田周右. 抗がん剤による小胞体タンパク質 CRT の細胞膜への移行. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑭ 笹沼拓也、鈴木賢一、東祐太郎、多田周右. 抗がん剤による CRT の細胞膜への移行とアポトーシスに関する解析. 第 59 回日本薬学会関東支部大会、2015 年 09 月 12 日、日本大学薬学部 (千葉県・船橋市)

⑮ 中崎祐太、津山崇、牛田磨理、関政幸、榎本武美、高橋美樹子、多田周右. Cdt1 による DNA 複製時の新生鎖伸長抑制作用に関する *Xenopus* 卵抽出液無細胞実験系を用いた解析. 日本細胞生物学会第 67 回大会、2015 年 6 月 30 日、タワーホール船堀 (東京都・江戸川区)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

多田 周右 (TADA, Shusuke)  
東邦大学・薬学部・教授  
研究者番号:00216970

### (2) 連携研究者

津山 崇 (TSUYAMA, Takashi)  
東邦大学・薬学部・助教  
研究者番号:70436096

### (3) 研究協力者

中崎 祐太 (NAKAZAKI, Yuta)  
後藤 勇貴 (GOTO, Yuki)