

令和 6 年 5 月 24 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K07079

研究課題名（和文）Rad17 ATPaseの解析からDNA損傷応答を標的とするシード化合物への展開

研究課題名（英文）Analysis of Rad17 ATPase for Targeting the DNA Damage Response

研究代表者

福本 泰典（Fukamoto, Yasunori）

千葉大学・大学院薬学研究院・講師

研究者番号：10447310

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：DNA損傷応答（DDR）はがんの抑制や治療に関わる重要な機構である。本研究ではDDRを制御する代表的なタンパク質であるRad17の構造活性相関に注目し、DDRを標的とする創薬へとつながる成果を得た。Rad17のC末端に存在するiVERGEドメインとそのリン酸化がRad17に必須の機能を持つことを明らかにした。さらに、Rad17の細胞内における空間的制御を解明し、特に核内への移行によってRad17タンパク質のプロテアソーム依存的分解が促進されることを見出した。本研究によってRad17と関連因子の制御機構について重要な知見が明らかとなり、DDRを標的とする分子標的薬の開発に繋がる成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、Rad17がKYxxLモチーフに加えて、iVERGEを二つ目の9-1-1複合体との相互作用ドメインとして持つことを示した。KYxxLとiVERGEそれぞれの制御機構を解析することで、DNA損傷応答の詳細な制御機構が明らかになると期待される。また、これはDDRを標的とする新規分子標的薬の開発において、Rad17と9-1-1複合体との相互作用を標的とする創薬に繋がる成果である。さらに、Rad17の細胞内局在の制御や二つのD-boxの存在が明らかとなり、新規分子標的の創出やDDRを標的とする抗がん剤の新規スクリーニング系の構築に貢献することが期待される。

研究成果の概要（英文）：DNA damage response (DDR) is a critical mechanism involved in cancer suppression and treatment. In this study, we focused on the structure-activity relationship of Rad17, a representative protein that regulates DDR, and obtained findings that could lead to the development of DDR-targeted therapeutics. We elucidated that the iVERGE domain located at the C-terminus of Rad17 and its phosphorylation are essential for Rad17's functionality. Furthermore, we discovered the spatial regulation of Rad17 within cells, particularly noting that its nuclear translocation promotes proteasome-dependent degradation of Rad17 protein. This research has provided significant insights into the regulatory mechanisms of Rad17 and its associated factors, yielding results that contribute to the development of molecular targeted drugs aimed at DDR.

研究分野：生物系薬学

キーワード：DNA損傷応答 細胞周期 細胞周期チェックポイント 翻訳後修飾 タンパク質分解 Rad17 9-1-1複合体 ATR

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

### DNA 損傷応答とがん

DNA 損傷応答機構 (DDR) はゲノムの安定性を維持する機構として生体の恒常性の維持に必要不可欠である。一方で、がん細胞は DDR の活性化によって化学療法や放射線治療に対する耐性を獲得する。そのため DDR はがん治療において重要な役割を果たし、分子標的型抗がん剤の創薬標的となる。正常細胞ではゲノム DNA に損傷が生じると、p53 依存的 DDR と ATR-Rad17 依存的 DDR による二重の機構によって細胞周期が停止し、その間に DNA 損傷の修復が行なわれる。一方で、がん細胞の多くは p53 遺伝子に変異を持ち、p53 の機能を欠いている。そのようながん細胞では ATR-Rad17 依存的 DDR によって細胞周期の停止が誘導されるため、ATR-Rad17 依存的 DDR の阻害は細胞死につながる。ATR-Rad17 依存的 DDR の阻害剤の開発はがん治療において有望な分子標的薬の創出につながる。

### ATR 経路と Rad17

ATR 経路は代表的な DDR の一つであり、ATR 経路を構成するキナーゼに対して数多くの阻害剤が開発されている。一方、Rad17 は ATR 経路を構成する ATPase であるが、その特異的阻害剤はまだ存在しない。Rad17 は損傷を受けたゲノム DNA に結合し、9-1-1 複合体を損傷部位に結合させ、ATR 経路の反応を開始させる。最近の我々の Rad17 の機能と制御についての研究のなかで、特に Rad17 と 9-1-1 複合体との相互作用について未解明な点が数多くあることを示唆する知見が得られ、これが本研究の出発点となった。

## 2. 研究の目的

本研究は、Rad17 に関する基礎的な解析を基盤として、Rad17 を標的とする分子標的薬の創出へつながる新規の分子標的を見出すことを目的とする。過去に成功した分子標的薬の多くはキナーゼ阻害剤であり、Rad17 などの ATPase を標的とするがん分子標的薬はまだ成功例がない。分子標的の枯渇が指摘される中で、新しい分子標的の探索ががん治療戦略において不可欠であることから、本研究では DDR に関わる ATPase として Rad17 の解析を行い、新規分子標的の創出とその基盤となる Rad17 の制御機構の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

Rad17 と 9-1-1 複合体との相互作用の生化学的解析においては、培養細胞へ遺伝子導入を行なって組換えタンパク質を発現させ、免疫沈降によってタンパク質間相互作用の検討を行なった。Rad17-iVERGE のリン酸化による制御の解析では、EGFP を iVERGE と融合させて培養細胞へ発現させ、そのリン酸化を検出した。また、バクテリアにおいて組換えタンパク質として iVERGE を発現し、やはり組換えタンパク質として調製した CK1 および CK2 によるリン酸化について検討した。Rad17 の核移行シグナルおよび核小体移行シグナルの解析では、培養細胞に組換えタンパク質を発現した後に、蛍光顕微鏡を用いてその細胞内局在の観察と解析を行なった。

Rad17 と相互作用タンパク質との詳細な相互作用機構の解析には、生化学的手法に加えて *in silico* 解析を使用した。タンパク質間相互作用の安定コンフォメーションの探索には、分子動力学シミュレーションを使用し、焼き鈍し法によってコンフォメーションのサンプリングを行なった。また、結合エネルギーの計算には量子計算を使用し、フラグメント分子軌道法によってアミノ酸残基間の相互作用エネルギーを計算した。計算結果の解析には機械学習を使用し、類似するコンフォメーションを階層的クラスタリングによってグループ分けし、エネルギー的に最も安定なクラスターを同定した。これらにより Rad17 とその相互作用タンパク質との詳細な相互作用機構を解析した。

## 4. 研究成果

### (1) Rad17 の酸性 C 末テール「iVERGE」の解析

Rad17 タンパク質の Rad17 の C 末端に存在する酸性アミノ酸に富むドメイン「iVERGE」に注目し、リン酸化による制御とタンパク質間相互作用を中心に解析し、多くの知見を得た。

### Rad17 酸性 C 末テール iVERGE のリン酸化による制御

以前の我々の研究において、Rad17 の C 末端には ATR 経路に必須の機能を担うドメイン「iVERGE」が存在すること(1)、さらに Rad17 iVERGE に存在する保存されたセリン残基(S667)の CK2 によるリン酸化が Rad17 の機能に必須であることを明らかにした(2)。本研究では S667 に加えて、保存されたスレオニン残基(T670)が細胞内で恒常的に CK1 によってリン酸化され

ていることを見出した。また、組換えタンパク質を用いた解析により、iVERGE が CK1 と CK2 によって相互促進的にリン酸化されることを明らかにした。この成果は、ATR 経路における新規のリン酸化ドメインを同定するとともに、CK1 と CK2 による ATR 経路の制御を示すものである。この成果は Fukumoto *et al.* BBRC 2019 として報告した(3)。

### Rad17-iVERGE の 9-1-1 複合体との相互作用に関わる分子機構

これまでの研究で Rad17-iVERGE が 9-1-1 複合体との相互作用に必須であることを見出していたが、その詳細な分子機構は未解明であった(1)。本研究では、iVERGE が 9-1-1 複合体と直接相互作用することを見出し、その詳細な分子機構の解析を行なった。

FLAG を付与した EGFP に iVERGE を融合させ、COS-1 細胞に発現し、免疫沈降をおこなった際に、内在性の Rad1 タンパク質が共免疫沈降されることを見出した。この相互作用には iVERGE-S667 の CK2 によるリン酸化が必要であった。従って、iVERGE が全長の Rad17 と同様の様式で 9-1-1 複合体と相互作用し、Rad17 と 9-1-1 複合体との相互作用ドメインの一つとなっていることが示唆された。

さらに詳細な分子機構を明らかにするために、In silico 解析を行った。ドッキングシミュレーションによって複数の相互作用モデルを作成し、相互作用エネルギーの計算と in vitro での実験結果から、実際のタンパク質間相互作用を反映すると期待される相互作用モデルを絞り込んだ。特に 9-1-1 複合体を構成する Hus1 サブユニットの塩基性および疎水性表面が iVERGE と結合すると予測された。分子動力学シミュレーションとフラグメント分子軌道法および機械学習を用いて、構造の最適化を行った。この構造モデルに基づいて Hus1 の変異体を作成し、iVERGE との相互作用を in vivo で検討した結果、Hus1 変異体では iVERGE との相互作用が減弱した。

以上の解析から iVERGE が 9-1-1 複合体と直接相互作用することが示され、特に in silico 解析と生化学的解析から iVERGE と Hus1 タンパク質との相互作用がその詳細な分子機構として示された。この成果は Fukumoto *et al.* DNA Repair 2023 として報告した(4)。

### 結論

我々は以前に Rad17 が KYxxL モチーフを介して 9-1-1 複合体と相互作用することを報告した(5)。今回の解析で Rad17 が KYxxL モチーフに加えて iVERGE を二つ目の 9-1-1 複合体との相互作用ドメインとして持つことが示された(1-4)。今後は、KYxxL と iVERGE それぞれの制御機構を解析することで、DDR の詳細な制御機構がさらに明らかになると期待される。また、この成果は DDR を標的とする新規分子標的薬の開発の中で、Rad17 と 9-1-1 複合体との相互作用を標的とする創薬に繋がる可能性があり、将来的な応用が期待される。

### (2) Rad17 の核内移行とプロテアソーム依存的分解機構の解析

Rad17 タンパク質の細胞内での空間的制御に注目し、Rad17 の核内移行および核小体移行に関わる分子機構を明らかにした。その過程で Rad17 の核内移行が Rad17 のプロテアソーム依存的分解を促進する事を見出し、その詳細な分子機構について解析した。また、Rad17 の D-box を同定し、これらの過程における Rad17 の D-box と ATP 結合能の寄与を明らかにした。

### Rad17 の核移行の制御機構の解析

以前の我々の研究で、Rad17 の細胞内局在の制御に Rad17 の ATPase 活性が関与することを見出していた(5)。本研究では、Rad17 の核内移行を制御する機構を探索した。その結果、Rad17 の核内移行は ATP 結合能に依存的であるが、ATP 加水分解能には非依存的であることが明らかとなった。さらに、Rad17 の中央に位置する塩基性アミノ酸に富むドメインの内部に核移行シグナルを同定した。一方で、この核内移行シグナルを欠く変異体でも 9-1-1 複合体とは正常に相互作用することが確認され、Rad17 と 9-1-1 複合体は細胞質において結合してから核内へ移行する可能性が示唆された。

### Rad17 のプロテアソーム依存的タンパク質分解機構の解析

上記の核内移行シグナルを欠く Rad17 変異体はプロテアソーム依存的なタンパク質分解に対して耐性を示した。Rad17 の ATP 結合能を欠く変異体もタンパク質の安定性が向上し、核内移行とタンパク質分解との関係が示唆された。以前に他のグループから、タンパク質分解に対して抵抗性を示す Rad1 の変異体が報告されていた。これらの変異体も核内へは移行せず細胞質への局在を示した。以上の解析から、Rad17 のタンパク質分解と核内移行の関連が示唆された。

Rad17 は Anaphase-promoting complex (APC)/Cdh1 依存的にユビキチン化され、タンパク質分解を受けることが報告されていた。そこでバイオインフォマティクス的手法を用いて Rad17 のアミノ酸配列を解析したところ、APC/Cdh1 に関連する D-box と推測される配列を Rad17 の N 末端に同定した。Rad17 の N 末端には二組の D-box 配列が存在し、これらは Rad17 の ATPase ドメインよりもさらに N 末端側に位置していた。一組は D-box のコンセンサス配列に一致し、もう一組は類似の塩基性および疎水性アミノ酸残基による新規の D-box 配列と推測された。

Rad17 の D-box と Cdh1 との相互作用について生化学的手法を用いて検討した。D-box を含む Rad17 の N 末端ペプチドと Cdh1 をそれぞれ組換えタンパク質としてバクテリアにおいて発現し、*in vitro* において相互作用を検討した。その結果、Rad17 の N 末端ペプチドと Cdh1 の相互作用が検出され、この相互作用は D-box の変異によって阻害された。二つある D-box のうち、どちらか一方のみの変異では相互作用に影響はなかったため、それぞれの D-box は独立して機能すると示唆された。さらに D-box を含む Rad17 の N 末端ペプチドを EGFP との融合タンパク質として COS-1 細胞に発現させたところ、EGFP タンパク質の安定性が有意に低下し、これは D-box の変異によって阻害された。この結果から、Rad17 の N 末端に二つの D-box が存在し、Rad17 のタンパク質分解に寄与することが示された。

以上の結果から、Rad17 複合体が細胞質で活性化され 9-1-1 複合体と結合し、核内移行後にタンパク質分解によって不活性化されるモデルが提案された。

## 結論

本研究により Rad17 の核内移行とプロテアソーム依存的分解機構に関する重要な知見が得られた。特に Rad17 の ATP 結合能と central basic domain による細胞内局在制御、そして N 末端に存在する二つの D-box の機能が明らかとなった。これらの成果は、新規分子標的の創出およびスクリーニング系の構築に繋がるものであり、将来的な応用が期待される。この成果は Fukumoto *et al.* J. Biol. Chem. 2021 として報告した(6)。

### (3) Rad17 タンパク質の核小体移行とプロテアソーム依存的タンパク質分解機構との関連

Rad17 のタンパク質中央部には我々が”central basic domain” (CBD)と命名した塩基性アミノ酸に富む領域が存在する。本研究では、この CBD に核小体移行シグナルが存在することを見出し、その解析を行った。

CBD と EGFP の融合タンパク質(CBD-EGFP)を培養細胞に発現させたとき、CBD-EGFP 融合タンパク質は核小体に優先的に蓄積した。また、点変異体の作成によって CBD 内の核小体移行シグナルを同定した。さらに、CBD 内での翻訳後修飾によって、核小体移行シグナルが制御されることを見出した。CBD-EGFP 融合タンパク質の核小体への蓄積を制御する機構を探索した結果、プロテアソーム阻害剤によって核小体への蓄積が促進されることを見出した。全長の Rad17 タンパク質においてもプロテアソーム阻害によって核小体への蓄積が促進された。

核小体は細胞全体の代謝状態などとタンパク質合成とを関連付ける細胞内小器官とされているが、近年の解析で従来考えられていたよりも幅広いストレスに応答することが知られている。以前に Rad17 の関連タンパク質である Rad9B が核小体へ蓄積することが報告されているが、その生理学的意義は不明である。今回、Rad9B に加えて Rad17 も核小体へよく集積することが示された。この成果は核小体による細胞ストレス応答に Rad17 と関連因子が関与する可能性を示唆するもので、今後の機能解析につながる重要な結果である。この成果は Fukumoto *et al.* Int. J. Mol. Sci. 2022 として報告した(7)。

## 参考文献

1. Fukumoto, Y., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N. (2017)  
The polyanionic C-terminal tail of human Rad17 regulates interaction with the 9-1-1 complex. *Biochem Biophys Res Commun* **490**, 1147-1153
2. Fukumoto, Y., Takahashi, K., Suzuki, N., Ogra, Y., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N. (2018)  
Casein kinase 2 promotes interaction between Rad17 and the 9-1-1 complex through constitutive phosphorylation of the C-terminal tail of human Rad17. *Biochem Biophys Res Commun* **504**, 380-386
3. Fukumoto, Y., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N. (2019)  
Human Rad17 C-terminal tail is phosphorylated by concerted action of CK1delta/epsilon and CK2 to promote interaction with the 9-1-1 complex. *Biochem Biophys Res Commun* **517**, 310-316
4. Fukumoto, Y., Hoshino, T., Nakayama, Y., and Ogra, Y. (2023)  
The C-terminal tail of Rad17, iVERGE, binds the 9-1-1 complex independently of AAA+ ATPase domains to provide another clamp-loader interface. *DNA Repair (Amst)* **130**, 103567
5. Fukumoto, Y., Ikeuchi, M., Nakayama, Y., and Yamaguchi, N. (2016)  
The KYxxL motif in Rad17 protein is essential for the interaction with the 9-1-1 complex. *Biochem Biophys Res Commun* **477**, 982-987
6. Fukumoto, Y., Ikeuchi, M., Qu, L., Hoshino, T., Yamaguchi, N., Nakayama, Y., and Ogra, Y. (2021)  
Nuclear translocation promotes proteasomal degradation of human Rad17 protein through the N-terminal destruction boxes. *J Biol Chem* **297**, 100831
7. Fukumoto, Y., Ikeuchi, M., Nakayama, Y., and Ogra, Y. (2022)  
Rad17 Translocates to Nucleolus upon UV Irradiation through Nucleolar Localization Signal in the Central Basic Domain. *Int J Mol Sci* **23**, 12300

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 7件）

|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukumoto Yasunori, Ikeuchi Masayoshi, Nakayama Yuji, Ogra Yasumitsu  | 4. 巻<br>23                    |
| 2. 論文標題<br>Rad17 Translocates to Nucleolus upon UV Irradiation through Nucleolar Localization Signal in the Central Basic Domain   | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Molecular Sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>12300 ~ 12300   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.3390/ijms232012300  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Tanaka Yu-ki, Shimazaki Shunsuke, Fukumoto Yasunori, Ogra Yasumitsu  | 4. 巻<br>94                    |
| 2. 論文標題<br>Detection of Histidine-Tagged Protein in Escherichia coli by Single-Cell Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry   | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>Analytical Chemistry   | 6. 最初と最後の頁<br>7952 ~ 7959     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1021/acs.analchem.2c00774   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Fukumoto Yasunori, Ikeuchi Masayoshi, Qu Liang, Hoshino Tyuji, Yamaguchi Naoto, Nakayama Yuji, Ogra Yasumitsu  | 4. 巻<br>297                   |
| 2. 論文標題<br>Nuclear translocation promotes proteasomal degradation of human Rad17 protein through the N-terminal destruction boxes  | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Biological Chemistry  | 6. 最初と最後の頁<br>100831 ~ 100831 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbc.2021.100831  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-                     |
| 1. 著者名<br>Tanaka Yu-ki, Usuzawa Hana, Yoshida Miyu, Kumagai Kazuhiro, Kobayashi Keita, Matsuyama Satoshi, Inoue Takato, Matsunaga Akihiro, Shimura Mari, Ruiz Encinar Jorge, Costa-Fernandez Jose M., Fukumoto Yasunori, Suzuki Noriyuki, Ogra Yasumitsu | 4. 巻<br>34                    |
| 2. 論文標題<br>Formation Mechanism and Toxicological Significance of Biogenic Mercury Selenide Nanoparticles in Human Hepatoma HepG2 Cells   | 5. 発行年<br>2021年               |
| 3. 雑誌名<br>Chemical Research in Toxicology  | 6. 最初と最後の頁<br>2471 ~ 2484     |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1021/acs.chemrestox.1c00231   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>該当する                  |

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukumoto Yasunori, Matsuhashi Kemmu, Tanaka Yu-ki, Suzuki Noriyuki, Ogra Yasumitsu  | 4. 巻<br>29                    |
| 2. 論文標題<br>Band 3/anion exchanger 1/solute carrier family 4 member 1 expression as determinant of cellular sensitivity to selenite exposure | 5. 発行年<br>2022年               |
| 3. 雑誌名<br>Biochemistry and Biophysics Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>101223 ~ 101223 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrep.2022.101223   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-                     |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>小椋 康光, 福本 泰典                 | 4. 巻<br>54          |
| 2. 論文標題<br>カルコゲン元素及びニクトゲン元素のメチル化代謝     | 5. 発行年<br>2022年     |
| 3. 雑誌名<br>月刊「細胞」                       | 6. 最初と最後の頁<br>31-34 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著<br>-           |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yasunori Fukumoto, Hiroataka Yamada, Kemmu Matsuhashi, Wakaba Okada, Yu-ki Tanaka, Noriyuki Suzuki, and Yasumitsu Ogra                      | 4. 巻<br>33              |
| 2. 論文標題<br>Production of a Urinary Selenium Metabolite, Trimethylselenonium, by Thiopurine S-Methyltransferase and Indoethylamine N-Methyltransferase | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Chemical Research in Toxicology   | 6. 最初と最後の頁<br>2467-2474 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1021/acs.chemrestox.0c00254  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ryuzaburo Yuki, Mari Hagino, Sachi Ueno, Takahisa Kuga, Youhei Saito, Yasunori Fukumoto, Noritaka Yamaguchi, Naoto Yamaguchi, Yuji Nakayama | 4. 巻<br>25              |
| 2. 論文標題<br>The tyrosine kinase v-Src modifies cytotoxicities of anticancer drugs targeting cell division  | 5. 発行年<br>2021年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Cellular and Molecular Medicine  | 6. 最初と最後の頁<br>1677-1687 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/jcmm.16270  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Yasunori Fukumoto, Yuji Nakayama, Naoto Yamaguchi   | 4. 巻<br>517           |
| 2. 論文標題<br>Human Rad17 C-terminal tail is phosphorylated by concerted action of CK1 / and CK2 to promote interaction with the 9-1-1 complex | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>Biochemical and Biophysical Research Communications   | 6. 最初と最後の頁<br>310-316 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.bbrc.2019.07.076  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>Yu-ki Tanaka, Yoshiaki Futami, Yasunori Fukumoto, Noriyuki Suzuki, Yasumitsu Ogra                                 | 4. 巻<br>3           |
| 2. 論文標題<br>Role of Metallothionein in Transcriptional Regulation by Metal-Responsive Element-Binding Transcription Factor 1 | 5. 発行年<br>2020年     |
| 3. 雑誌名<br>BPB Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>22-27 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし  | 査読の有無<br>有          |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-           |

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukumoto Yasunori, Hoshino Tyuji, Nakayama Yuji, Ogra Yasumitsu   | 4. 巻<br>130                   |
| 2. 論文標題<br>The C-terminal tail of Rad17, iVERGE, binds the 9-1-1 complex independently of AAA+ ATPase domains to provide another clamp/loader interface | 5. 発行年<br>2023年               |
| 3. 雑誌名<br>DNA Repair  | 6. 最初と最後の頁<br>103567 ~ 103567 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.dnarep.2023.103567  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-                     |

|   |                               |
|---|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Fukumoto Yasunori, Kyono Rin, Shibukawa Yuka, Tanaka Yu-ki, Suzuki Noriyuki, Ogra Yasumitsu   | 4. 巻<br>300                   |
| 2. 論文標題<br>Differential molecular mechanisms of substrate recognition by selenium methyltransferases, INMT and TPMT, in selenium detoxification and excretion | 5. 発行年<br>2024年               |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Biological Chemistry   | 6. 最初と最後の頁<br>105599 ~ 105599 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jbc.2023.105599   | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-                     |



|  |                               |
|--|-------------------------------|
| 1. 著者名<br>Ota Ryoko, Watanabe Takumi, Wazawa Yuuki, Kuwajima Hiroki, Honda Takuya, Soeda Shuhei, Saito Youhei, Yuki Ryuzaburo, Fukumoto Yasunori, Yamaguchi Noritaka, Yamaguchi Naoto, Nakayama Yuji | 4. 巻<br>109                   |
| 2. 論文標題<br>v-Src delocalizes Aurora B by suppressing Aurora B kinase activity during monopolar cytokinesis   | 5. 発行年<br>2023年               |
| 3. 雑誌名<br>Cellular Signalling  | 6. 最初と最後の頁<br>110764 ~ 110764 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.cellsig.2023.110764  | 査読の有無<br>有                    |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-                     |

|  |                             |
|--|-----------------------------|
| 1. 著者名<br>Yasunori Fukumoto, Dongyue Wang, Yu-ki Tanaka, Noriyuki Suzuki, Yasumitsu Ogra   | 4. 巻<br>3                   |
| 2. 論文標題<br>Acute methylmercury exposure induces inactivation of ATR pathway and enhancement of DNA replication stress through degradation of Rad17 | 5. 発行年<br>2023年             |
| 3. 雑誌名<br>Metallomics Research   | 6. 最初と最後の頁<br>reg21 ~ reg28 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.11299/metallomicsresearch.MR202304  | 査読の有無<br>有                  |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-                   |

〔学会発表〕 計23件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典, 京野 凜, 渋川 侑果, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光                   |
| 2. 発表標題<br>Indolethylamine N-methyltransferase のセレンメチル 化反応における基質認識機構 |
| 3. 学会等名<br>メタルバイオサイエンス研究会 2020 [京都テルサ (京都)]                          |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典, 京野 凜, 渋川 侑果, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光   |
| 2. 発表標題<br>Thiopurine S-methyltransferaseとIndolethylamine N-methyltransferaseのセレンメチル化反応における基質認識機構の差異 |
| 3. 学会等名<br>第45回 日本分子生物学会年会 [幕張メッセ (千葉)]  |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>鷹田歩佳, 田中佑樹, 福本泰典, 鈴木紀行, 小椋康光 |
| 2. 発表標題<br>亜テルル酸のメチル化に関わるメチル基転移酵素の同定    |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第143年会 [北海道大学(北海道)]     |
| 4. 発表年<br>2023年                         |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>岩瀬 真喜子, 田中 佑樹, 福本 泰典, 鈴木 紀行, 小椋 康光   |
| 2. 発表標題<br>バイオジェニックセレン化水銀ナノ粒子 形成におけるリソソーム内環境の影響 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第143年会 [北海道大学(北海道)]             |
| 4. 発表年<br>2023年                                 |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Yasumitsu Ogra, Yu-ki Tanaka, Shunsuke Shimazaki and Yasunori Fukumoto                             |
| 2. 発表標題<br>Detection of metal-chelating histidine-tagged recombinant protein in E. coli by single cell-ICP-MS |
| 3. 学会等名<br>10th Asian Biological Inorganic Chemistry Conference (Hyogo, Japan) (国際学会)                         |
| 4. 発表年<br>2022年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鈴木紀行, 栗原菜摘, 坂倉壮真, 田中佑樹, 福本泰典, 小椋康光    |
| 2. 発表標題<br>水銀毒性に対するセレン化合物の影響とその作用機序              |
| 3. 学会等名<br>フォーラム2022 衛生薬学・環境トキシコロジー [熊本城ホール(熊本)] |
| 4. 発表年<br>2022年                                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>王 冬月, 福本 泰典, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光      |
| 2. 発表標題<br>メチル水銀曝露によるDNA複製ストレスの増幅とその分子機構の解析      |
| 3. 学会等名<br>フォーラム2022 衛生薬学・環境トキシコロジー [熊本城ホール(熊本)] |
| 4. 発表年<br>2022年                                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典, 池内 正剛, 瞿 良, 星野 忠次, 中山 祐治, 小椋 康光                          |
| 2. 発表標題<br>核内移行とcanonical/non-canonical D-boxによるRad17タンパク質のプロテアソーム依存的分解の制御 |
| 3. 学会等名<br>第44回 日本分子生物学会年会   |
| 4. 発表年<br>2021年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Yu-ki Tanaka, Shunsuke Shimazaki, Yasunori Fukumoto, and Yasumitsu Ogra     |
| 2. 発表標題<br>Determination of recombinant histidine-tagged protein by single cell ICP-MS |
| 3. 学会等名<br>2022 Winter Conference on Plasma Spectrochemistry (招待講演) (国際学会)             |
| 4. 発表年<br>2022年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>京野 凜, 福本 泰典, 渋川 侑果, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光 |
| 2. 発表標題<br>セレン代謝に関わるメチル基転移酵素の分子機構の解析               |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第142年会                             |
| 4. 発表年<br>2022年                                    |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>柳 洋輝, 塩川 絢子, 田中 佑樹, 福本 泰典, 小椋 康光      |
| 2. 発表標題<br>哺乳類細胞におけるテルルバイオジェニックナノ粒子形成への活性硫黄分子の関与 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会第142年会                           |
| 4. 発表年<br>2022年                                  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>王 冬月, 福本 泰典, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光      |
| 2. 発表標題<br>DNA損傷応答因子Rad17タンパク質のメチル水銀による分解誘導機構の解析 |
| 3. 学会等名<br>メタルバイオサイエンス研究会 2021                   |
| 4. 発表年<br>2021年                                  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>渋川 侑果, 福本 泰典, 京野 凜, 丸山 祐可, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光 |
| 2. 発表標題<br>セレン代謝における還元型セレン糖の機能の解明                         |
| 3. 学会等名<br>メタルバイオサイエンス研究会 2021                            |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>京野 凜, 福本 泰典, 渋川 侑果, 田中 佑樹, 鈴木 紀行, 小椋 康光            |
| 2. 発表標題<br>インドールエチルアミンN-メチルトランスフェラーゼと相同タンパク質のセレンに対するメチル化活性の検討 |
| 3. 学会等名<br>フォーラム2021 衛生薬学・環境トキシコロジー                           |
| 4. 発表年<br>2021年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>田中 佑樹, 島崎 隼輔, 福本 泰典, 小椋康光      |
| 2. 発表標題<br>単一細胞ICP 質量分析法の大腸菌組換えタンパク質量への応用 |
| 3. 学会等名<br>第69回質量分析総合討論会2021              |
| 4. 発表年<br>2021年                           |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典, 池内 正剛, 瞿 良, 星野 忠次, 中山 祐治, 小椋 康光    |
| 2. 発表標題<br>D-boxと核内移行によるヒトRad17タンパク質のプロテアソーム依存的分解の制御 |
| 3. 学会等名<br>フォーラム2020 衛生薬学・環境トキシコロジー                  |
| 4. 発表年<br>2020年                                      |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>高橋 一聡, 福本 泰典, 小椋 康光                             |
| 2. 発表標題<br>腸内細菌叢由来水銀代謝性菌の探索におけるレーザーアブレーション(LA)-ICP-MSの応用検討 |
| 3. 学会等名<br>フォーラム2020 衛生薬学・環境トキシコロジー                        |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>田中 佑樹, 飯田 里紗子, 島崎 隼輔, 久保田 哲央, 山中 理子, 杉山 尚樹, 福本 泰典, 小椋 康光 |
| 2. 発表標題<br>Single cell-ICP質量分析計を用いた単一細胞中の 生命金属分析                    |
| 3. 学会等名<br>生命金属に関する合同年会 Consortium of Metal Biosciences 2020        |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典   |
| 2. 発表標題<br>金属元素のアルキル化機構の解析と細胞内シグナル伝達の攪乱                      |
| 3. 学会等名<br>生命金属に関する合同年会 Consortium of Metal Biosciences 2020 |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>鈴木紀行, 栗原菜摘, 市川恵一, 原 精一, 伊藤考太郎, 田中佑樹, 福本泰典, 小椋康光 |
| 2. 発表標題<br>セレン化合物による水銀毒性の修飾とその作用機序                         |
| 3. 学会等名<br>第31回日本微量元素学会学術集会                                |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>島崎隼輔, 田中佑樹, 福本泰典, 小椋康光                  |
| 2. 発表標題<br>単一細胞誘導結合プラズマ質量分析法による大腸菌組換えタンパク質の 定量法の確立 |
| 3. 学会等名<br>第31回日本微量元素学会学術集会                        |
| 4. 発表年<br>2020年                                    |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>福本 泰典, 池内 正剛, 瞿 良, 星野 忠次, 中山 祐治, 山口 直人    |
| 2. 発表標題<br>D-boxと核内移行によるヒトRad17タンパク質のプロテアソーム依存的分解の制御 |
| 3. 学会等名<br>日本薬学会 第140年会                              |
| 4. 発表年<br>2020年                                      |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>山田 大空, 福本 泰典, 田中 佑樹, 岡田 若葉, 松橋 研武, 渋川 侑果, 鈴木 紀行, 小椋 康光 |
| 2. 発表標題<br>セレンの尿中排泄におけるメチル化の機構                                    |
| 3. 学会等名<br>第5回 日本セレン研究会   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|               | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                      | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                | 備考 |
|---------------|--|--------------------------------------|----|
| 研究<br>分担<br>者 | 中山 祐治<br><br>(Nakayama Yuji)<br><br>(10280918) | 京都薬科大学・薬学部・教授<br><br><br><br>(34306) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

|         |         |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|