

Title	Lats2 phosphorylates p21, regulates apoptosis and localizes to nuclear speckles after UV irradiation
Author(s)	鈴木, 宏和
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/52228
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

[題 名] Lats2 phosphorylates p21, regulates apoptosis and localize to nuclear speckles after UV irradiation.

(Lats2は紫外線照射を受けp21をリン酸化し、アポトーシスを制御し、核スペckルに局在する。)

学位申請者 鈴木 宏和

Lats2, a tumor suppressor and central kinase in the Hippo pathway, regulates organ size and cell growth in vertebrates. Lats2 also plays important roles in the ATR-Chk1 pathway after UV radiation. However, the detailed functions in the Lats2 in DNA damage response remain elusive.

Here I show that Lats2 was phosphorylated by Chk1 at S835 in response to UV radiation. Since Lats2-S835 locates at the kinase domain of Lats2, I assume this phosphorylation enhances kinase activity of Lats2. Furthermore, I found that S835-phosphorylated Lats2 localized in nuclear speckles which controls the pre-mRNA splicing. I searched for the relation between Lats2 and p21 upon DNA damage. After UV irradiation, p21 protein levels in cytoplasm decreased rapidly; however, p21 remained markedly higher in cells transfected with Lats2 siRNA. *In vitro* kinase assay revealed that Lats2 phosphorylated p21 at S146; this phosphorylation is known to destabilize p21.

Surprisingly, S146-phosphorylated p21 also localized to nuclear speckles where p21 was not destabilized after UV irradiation. It was reported that p21 in cytoplasm inhibits apoptosis by binding to caspase. I found that overexpression of Lats2 (Lats2-S835D) in activated state induced apoptosis. Interestingly, p21 degradation and caspase activation was detected in Lats2-S835D expressing cells. Moreover, overexpression of p21 inhibited Lats2-S835D-induced cell death. I propose that S835-phosphorylated Lats2 by Chk1 after UV radiation phosphorylates and activates nearby Lats2. Then, activated Lats2 phosphorylates S146 of p21 leading to degradation of cytoplasmic p21, thereby inducing apoptosis by activation of caspase-3/9.

p53 is stabilized by DNA damage and induces transcription of an apoptosis inhibitor p21, simultaneously with apoptosis-inducing factors. On the other hand, Lats2 is activated by Chk1 and inhibits p21. I believe the function of p53 is to comprehensively regulate apoptosis induced by Lats2. Moreover, I found that Lats2 phosphorylates S183 of PHF6, a zinc finger protein, and S183-phosphorylated PHF6 localized to nuclear speckles. Although PHF6 localized nucleolus before UV irradiation, Lats2 induced translocation of PHF6 from the nucleolus to the nuclear speckle in a phosphorylation dependent manner after UV irradiation. These results suggest that Lats2 has some important functions in the nuclear speckle.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (鈴 木 宏 和)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	野島 博
	副 査	教授	三木 裕明
	副 査	教授	野田 健司
	副 査	准教授	名田 茂之
論文審査の結果の要旨			
<p>本論文は、細胞増殖を制御するHippo経路において研究が盛んに行われているLats2キナーゼ蛋白質の、DNA損傷下流における機能研究である。本論文において、「Lats2が紫外線照射によって上流のキナーゼにリン酸化を受け活性化する事」「活性化に必要な自己リン酸化部位の同定」「活性化したLats2によるp21へのリン酸化と、それによるp21不安定化機構の発見」「活性化型Lats2がアポトーシス誘導機能を持つ事の発見」「活性化型Lats2が核スペckルに局在する事の発見」の5点が、重要な新規の知見である。</p> <p>紫外線によるDNA損傷下流において重要な役割を担うChk1キナーゼ蛋白質は、細胞周期停止・DNA損傷修復へと導くエフェクターだが、申請者はこのChk1がLats2のSer835をリン酸化し活性化することを明らかにした。Ser835はLats2によるリン酸化も受けており、Chk1がLats2分子全体の活性化の引き金を引くとしている。さらに、活性化したLats2がp21のSer146をリン酸化し、p21を不安定化させることも発見した。さらに、リン酸化擬似変異体であるLats2-S835Dを細胞に誘導すると強いアポトーシスが起こることも発見し、Lats2がアポトーシス誘導機能をもつことを明らかにした。さらに、この活性化型Lats2が核内におけるスプライシングの中心である核スペckルに局在していることを見出した。核スペckルでは、p21、PHF6といったタンパク質がLats2によりリン酸化を受け局在することも発見し、今後は核スペckルにおけるLats2の新規機能の発見が期待される。</p> <p>このように、これまでは細胞増殖・細胞周期制御に重要であると考えられていたLats2が、DNA損傷下流でも機能を有していることを明らかにした点は非常に意義深く、がん抑制遺伝子としてのLats2の研究をさらに加速させるものと考ええる。</p> <p>本研究は、平成27年3月3日、最終試験を口頭で行った結果、合格と判定した。</p>			