

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成21年度採択分

平成24年 5月31日現在

研究課題名（和文） **ゲノム伝達の中核にある染色体動原体の方向性を決める分子機構**

研究課題名（英文） Molecular mechanisms that determine kinetochore orientation acting at the heart of genome transition

研究代表者

渡邊 嘉典 (WATANABE YOSHINORI)

東京大学・分子細胞生物学研究所・教授



研究の概要：ゲノム分配様式は、体細胞分裂で見られる「均等分裂」と生殖細胞で見られる「還元分裂」の2つの様式がある。ともに真核生物を規定する大変重要なゲノムの継承様式である。いずれの分配様式も、染色体の動原体を正しい方向から捕らえることが重要となる。本研究では、動原体の方向性を規定する分子機構を明らかにすることを旨とする。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：染色体分配、動原体、セントロメア、シュゴシン

1. 研究開始当初の背景

(1)複製したゲノムを反対方向へ分配する（均等分裂）か同じ方向へ運ぶ（還元分裂）かは、ある意味まったく正反対のことである。我々のグループは、この違いを作り出す過程に染色体接着因子コヒーシンが重要な役割を果たしていることを示唆してきたが、その具体的な分子機構については分かっていた。

(2)シュゴシンは染色体の接着を保護する因子として同定されたが、その分子機能および制御機構については未知の点が多かった。(3)染色体の分配には、染色体のセントロメアおよび動原体部位の構造が重要な働きをするが、その構築の分子基盤はよく分かっていた。

2. 研究の目的

(1)染色体接着因子コヒーシンが、どのような分子機構によって動原体の方向を制御しているか、その分子機構を解明する。(2)全ての生物に保存されたシュゴシンの分子機能およびセントロメアへの局在化機構を解き明かす。(3)染色体の構造の分子基盤を、セントロメアと動原体部位に焦点を絞り明らかにする。

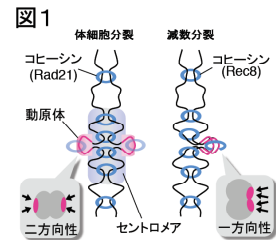
3. 研究の方法

(1)動原体の方向と接着の関係を、酵母の分子遺伝学および細胞生物学的手法を駆使して明らかにする。(2)動物細胞の体細胞分裂期には、2つのシュゴシン SG01 と SG02 が存在する。これらの

因子の共通の機能及びそれぞれの特化した機能を、生化学的手法及び細胞生物学的手法により解明する。さらに、シュゴシンのセントロメア局在に必要な Bub1 キナーゼの基質を同定し、局在化機構の全貌を明らかにする。(3)染色体の分子的構造基盤の中核をなすコンデンシン・タンパク質の動原体での機能を、酵母およびヒト細胞で並行して調べる。

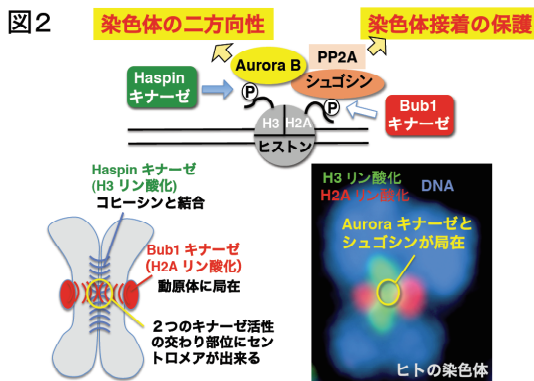
4. これまでの成果の抜粋

(1)動原体近辺の DNA を局所的に切り出して、その部分の接着を調べる実験系を開発し、セントロメア周辺の接着部位と動原体の方向性の間に強い相関があることを明らかにした。すなわち、2つの染色体の動原体の中央部分だけ接着を解除してその近傍のみを接着させることにより動原体を反対方向へ向かせ、逆に動原体の中央部分を接着させることにより同じ方向へ向かせるという分子メカニズムを明らかにした（図1）。このことは、真核生物の染色体一般に通じる根本原理と考えられる。



(2)シュゴシンは、脱リン酸化酵素 PP2A を呼び込むことによって、染色体の接着を守る。今回、シュゴシンは、これとは独立に染色体の二方向性を規定するオーロラキナーゼと複合体を形成して、染色体のセントロメアに局在することを明らかにした。このとき、染色体全体に存在するヒストン複合体の構成因子である H2A と H3 が、セントロメア近

〔4. これまでの成果の抜粋 (続き)〕
傍で特異的なアミノ酸のリン酸化を受け、それらをめがけてシュゴシンとオーロラキナーゼの複合体が局在することを突き止めた。また、この2つのヒストンのリン酸化は、動原体に局在する Bub1 キナーゼと、染色体ペアの接着部位に局在する Haspin キナーゼによって担われており、これらのリン酸化が空間的に交わった部位にセントロメアが形成されることを意味する (図2)。このセントロメア形成機構を ICS (インナーセントロメア・シュゴシン) ネットワークと命名した。酵母とヒトの細胞の解析から、この機構は保存された機構であることを証明した。本研究は、染色体のセントロメアという場が空間的にどのように規定されるかという生物学の



根本的な問題を解決した。さらにヒト SG02 が染色体の整列を制御するタンパク質 MCAK をセントロメアに局在化させる機能をもつことも明らかにした。
(3) 染色体が分配されるときに、動原体が正しくスピンドル微小管によって捕らえられる必要がある。また、染色体が絡まることなく正しく分かれるには、染色体の腕部が‘縮む’ことが重要である。コンデンシンは、染色体を凝縮させる働きをするタンパク質として知られていた。本研究では、コンデンシンが染色体の動原体に特異的に局在することによってコンパクトな動原体の構造を構築し、スピンドル微小管が正しく染色体を捕らえることを保証していることを明らかにした。また、コンデンシンが染色体 DNA 上に均一に存在するヒストン複合体の一つのタンパク質 H2A を足場に局在することを発見した。本研究により、染色体の形と分離の動的制御について根本的な理解が得られた。

5. 今後の計画

本研究で明らかにした ICS ネットワークの異変が、ヒトのがん細胞の産生につながっている可能性について検討する。今まで酵母を用いた研究で得られた知見をもとに、特に減数分裂の染色体動態の制御について、マウスを用いた研究を展開し、真核生物に保存された染色体分配の本質的なメカニズムを解き明かす。

6. これまでの主要発表論文 (研究代表者の責任著者論文) および受賞

- (1) Yamagishi, Y., Yang, CH., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Mps1/Mph1 phosphorylates the kinetochore protein KNL1/Spc7 to recruit SAC components. *Nature Cell Biol.* in press
- (2) Watanabe, Y. Geometry and force behind kinetochore orientation: lessons from meiosis (review article). *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 370-382 (2012)
- (3) Sakuno, T., Tanaka, K., Hauf, S., & Watanabe, Y. Repositioning of Aurora B promoted by chiasmata ensures sister chromatid mono-orientation at meiosis I. *Dev. Cell* 21, 534-545 (2011)
- (4) Tada, K., Susumu, H., Sakuno, T., & Watanabe, Y. Condensin association with histone H2A shapes mitotic chromosomes. *Nature (article)* 474, 477-483 (2011)
- (5) Yamagishi, Y., Honda, T., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Two histone marks establish the inner centromere and chromosome bi-orientation. *Science* 330, 239-243 (2010)
- (6) Tsukahara, T., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Phosphorylation of the CPC by Cdk1 promotes chromosome bi-orientation. *Nature* 467, 719-723 (2010)
- (7) Tanno Y., Kitajima T.S., Honda, T., Ando Y., Ishiguro K., & Watanabe, Y. Phosphorylation of mammalian Sgo2 by Aurora B recruits PP2A and MCAK to centromeres. *Genes Dev.* 24, 2169-2179 (2010)
- (8) Ishiguro, T., Tanaka, K., Sakuno, T., & Watanabe, Y. Shugoshin-PP2A counteracts Casein Kinase 1-dependent cleavage of Rec8 by separase. *Nature Cell Biol.* 12, 500-506 (2010)
- (9) Kawashima, S.A., Yamagishi, Y., Honda, T., Ishiguro, K., & Watanabe, Y. Phosphorylation of H2A by Bub1 prevents chromosomal instability through localizing shugoshin. *Science (article)* 327, 172-177 (2010)
- (10) Tanaka, K., Chang, H.L., Kagami, A., & Watanabe, Y. CENP-C functions as a scaffold for effectors with essential kinetochore functions in mitosis and meiosis. *Dev. Cell* 17, 334-343 (2009)
- (11) Sakuno, T., Tada, K., & Watanabe, Y. Kinetochore geometry defined by cohesion within the centromere. *Nature (article)* 458, 852-858 (2009)

ホームページ

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab>