

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料  
〔平成28年度研究進捗評価用〕

平成25年度採択分

平成28年 5月31日現在

研究課題名（和文） **保存された染色体分配の制御機構**  
研究課題名（英文） Conserved molecular mechanisms controlling chromosome segregation

課題番号：25000014

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：細胞分裂にともないゲノムを分ける方法には、体細胞で見られる「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。いずれも、染色体の動原体をスピンドル微小管が正しい方向から捕らえることが重要となる。本研究では、酵母と哺乳動物の体細胞および生殖細胞の解析を通して、真核生物一般に通じる普遍的な染色体分配の制御機構を明らかにすることを目的とする。

研究分野：生物学

キーワード：染色体分配、動原体、セントロメア、シュゴシン、マイキン

#### 1. 研究開始当初の背景

(1) 酵母の研究から、減数分裂特異的な動原体およびテロメアの制御因子が同定され、それらの分子機能が解析されていたが、哺乳動物ではほとんど研究が進んでいなかった。  
(2) スピンドルチェックポイント(SAC)因子には、染色体がスピンドルの赤道面に整列して二方向から捕らえられたことをチェックする機構があることが知られていた。  
(3) インナーセントロメア・シュゴシン(ICS)ネットワークが、複製した染色体のセントロメアの接着を守りつつ染色体の動原体と微小管の間違った結合を修正する働きがあることが分かっていた。

#### 2. 研究の目的

(1) 酵母で同定されていた動原体およびテロメアにおける減数分裂特異的制御因子の保存性を、哺乳動物において調べる。  
(2) SAC因子の新たな機能を探求することによって、染色体の二方向性結合に関わる新たな知見を得る。  
(3) ICSネットワークとがん細胞の染色体不安定性との関わりを明らかにする。

#### 3. 研究の方法

(1) マウスの動原体特異的因子マイキンのノックアウト解析からその機能を解析する。また、マイキンの相互作用因子を検索して、その分子機能を調べる。  
(2) SAC主要因子Mad1に相互作用するタンパク質を、酵母ツーハイブリッド法により検索する。新規の相互作用タンパク質が得られ

たら、その機能を遺伝学的に解析する。

(3) 染色体不安定性を示すがん細胞由来の細胞株と、染色体不安定性を示さない細胞株で、ICSネットワークの主要因子（シュゴシンおよびオーロラキナーゼ）の局在を免疫染色法によって調べる。ICSネットワークが不安定化している細胞株においては、さらにその原因を調べる。

#### 4. これまでの成果の抜粋

(1) 酵母を用いた研究により、減数分裂期のテロメアが先導する染色体運動によって、染色体の対合が促進されることが示唆されていた。本研究では、マウスの生殖細胞でテロメア運動を制御する3つの新規因子（MAJIN、TERB1、TERB2）を発見した。これらの因子は、生殖細胞において、テロメアの構造を減数分裂に特化した構造へと変化させる特殊なタンパク質であることが判明した。本研究により、50年来の謎であった、哺乳動物の減数分裂に特化したテロメアの分子構造、およびその制御機構の全貌が見えてきた（図1）。

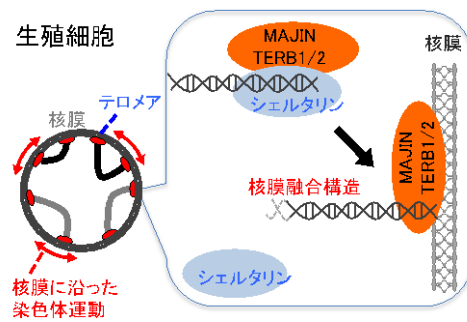


図1: 今回の発見で明らかとなった哺乳動物における生殖細胞のテロメア結合分子の構造とその制御。

#### 〔4. これまでの成果 (続き)〕

減数分裂の染色体分配の特徴の一つは、姉妹動原体が同じ極から伸びた微小管によって捉えられることにある。マウスを用いた研究により、生殖細胞のみ出現する動原体タンパク質マイキン (MEIKIN) を発見し、減数分裂の動原体制御の司令塔因子であることを明らかにした。マウスと酵母を使った解析から、生殖細胞において染色体を分配する仕組みが広く保存されていることを証明した。MEIKIN の相互作用因子として Polo キナーゼを同定した。

(2) 染色体がスピンドル上に整列するとき、二方向性結合ができていない染色体が一本でもあると、その染色体の中心部分にある動原体にチェックポイント・タンパク質 Mad1 が集積する。本研究では、Mad1 がキネシン・モータータンパク質をセントロメアに呼び込み、染色体を整列する働きがあることを示した。進化の過程で、染色体を整列する機構にともなってそれをチェックする機構が確立されたと推論することができ、チェックポイントの起源を考える上で大変重要な発見であるといえる。

(3) 1998年の Vogelstein らの総説 (*Nature*) に明記されているように、がん細胞の多くでは染色体不安定性とよばれる高頻度の染色体の分配異常が観察され、この性質が細胞のがん化やがんの悪性を促進すると考えられている。しかし、その原因となる分子機構については長い間論争が続き、がん生物学の最重要課題として残っている。我々は、がん細胞の染色体分配異常の主な原因が、体細胞型のシュゴシンが関わる ICS ネットワークの不安定化にあることを見出した (図2)。

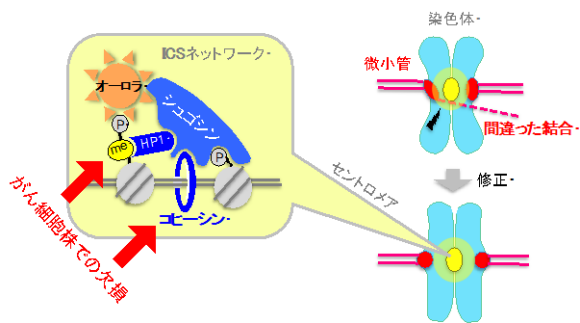


図2: ICSネットワークは、間違った微小管と動原体の接着を修正する働きがある。多くのがん細胞株では、ICSネットワークが不安定化している。

#### 5. 今後の計画

減数分裂特異的な動原体制御因子マイキンおよび Polo キナーゼの分子機能および標的を明らかにする。染色体の動原体が両極から捕らえられるときの分子機構をより明確にする。とくにセントロメア動原体が張力を認識する機構を明らかにする。ヒトの腫瘍組織において、実際に ICS ネットワークに異常が起きているか調べる。さらに、制がん剤の開発につなげる。

#### 6. これまでの主要発表論文および受賞

- (1) Ishiguro, K. and Watanabe, Y. The cohesin REC8 prevents illegitimate inter-sister synaptonemal complex assembly. *EMBO rep.* (review) DOI 10.15252/embr.201642544 (2016).
- (2) Essential role of the Cdk2 activator RingoA in meiotic telomere tethering to the nuclear envelope. Mikolcevic, P., Isoda, M., Shibuya, H., del Barco Barrantes, I., Igea, A., Suja, J. A., Shackleton, S., Watanabe, Y., and Nebreda, A. R. *Nature Comm.*, 7, 11084 (2016).
- (3) MAJIN links telomeric DNA to the nuclear membrane by exchanging telomere cap. Shibuya, H., Hernandez-Hernandez, A., Morimoto, A., Negishi, L., Hoog, C., and Watanabe, Y. *Cell*, 163, 1252-1266 (2015).
- (4) The inner centromere-shugoshin network prevents chromosomal instability. Tanno, Y., Susumu, H., Kawamura, M., Sugimura, H., Honda, T., and Watanabe, Y. *Science*, 349, 1237-1240 (2015).
- (5) Mad1 promotes chromosome congression by anchoring a kinesin motor to the kinetochore. Akera, T., Goto, Y., Sato, M., Yamamoto, M., and Watanabe, Y. *Nature Cell Biol.*, 17, 1124-1133 (2015).
- (6) Phosphorylation of cohesin Rec11/SA3 by casein kinase 1 promotes homologous recombination by assembling the meiotic chromosome axis. Sakuno, T., and Watanabe, Y. *Dev. Cell*, 32, 220-230 (2015).
- (7) Meikin is a conserved regulator of meiosis-I-specific kinetochore function. Kim, J., Ishiguro, K., Nambu, A., Akiyoshi, B., Yokobayashi, S., Kagami, A., shiguro, T., Pendas, AM., Takeda, N., Sakakibara, Y., Kitajima, TS., Tanno, Y., Sakuno, T., and Watanabe, Y. *Nature* (article), 517, 466-471 (2015).
- (8) The dissection of meiotic chromosome movement in mice using an in vivo electroporation technique. Shibuya, H., Morimoto, A., and Watanabe, Y. *PLoS Genet.*, 10, e1004821 (2014).
- (9) Meiosis-specific cohesin mediates homolog recognition in mouse spermatocytes. Ishiguro, K., Kim, J., Shibuya, H., Hernandez-Hernandez, A., Suzuki, A., Fukagawa, T., Shioi, G., Kiyonari, H., Li, X. C., Schimenti, J., Höög, C., and Watanabe, Y. *Genes Dev.*, 28, 594-607 (2014).
- (10) The TRF1-binding protein TERB1 promotes chromosome movement and telomere rigidity in meiosis. Shibuya, H., Ishiguro, K., and Watanabe, Y. *Nature Cell Biol.*, 16, 145-156 (2014).

2014 EMBO 外国人会員

2015 武田医学賞

2016 朝日賞

2016 内藤記念科学振興財団賞

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