

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	染色体分配の機能異常の分子機構とその発がんにおける意義の解明
研究機関・ 部局・職名	国立遺伝学研究所・分子遺伝研究系・教授
氏名	深川 竜郎

### 1. 当該年度の研究目的

深川らは、これまで、高等動物の染色体分配に必須なセントロメア構造の形成機構の解明やがん細胞におけるセントロメア構成タンパク質の機能異常に着目した研究を精力的に行なってきた。国内外から一定の評価を受けている。本研究では、深川らがこれまで研究を推進してきたセントロメアに関する研究を基盤として、セントロメアが機能するために必要な分子構造基盤を解析することで、発がん過程のゲノム不安定性の要因を分子レベルで解明することを目指している。具体的には、深川らが進めてきたこれまでの研究を基盤として、1) 基礎生物学的視点から、分子細胞生物学と構造生物学を用いてセントロメアの機能構造解析を進める研究と 2) 医科学的視点から、動物発がんの実験系を用いてセントロメアの機能不全マウスがどのようにがん化に関与するのかを解明する研究の 2 本柱を立てて計画を推進する。23 年度は、CENP-T/W 複合体の詳細な機能構造の解明を目標に高精度で立体構造を決定することを目指した。さらに、セントロメアタンパク質遺伝子のノックアウトマウスを複数作成して発がん実験を開始することを目指した。

### 2. 研究の実施状況

#### 1) セントロメア構成タンパク質の機能・構造学的解析

深川らは、セントロメアの DNA 領域に直接結合する CENP-T/W 複合体を同定し(Cell, 2008)、この複合体を通じたセントロメアの機能解析を本研究で目指している。本年度は、特に CENP-T/W 複合体に対して生化学および構造生物学実験を行い、特徴的な構造が同定できれば、その生物学的意義を細胞生物学実験を用いて証明するという研究手法をとった。はじめに、CENP-T/W 複合体が、CENP-S/X 複合体と強固に結合するという結果を生化学実験で得た。さらに、X 線結晶構造解析によって、CENP-T/W 複合体、CENP-S/X 複合体および CENP-T/W/S/X 複合体の高精度構造が決定できた。その結果、それぞれの複合体は、ヒストンに似た構造をとり、CENP-T/W/S/X 複合体は、ヘテロ 4 量体構造を形成していることが明らかになった。さらに、4 量体に必要なアミノ酸残基を同定でき、そこに変異を加えたタンパク質は、セントロメアへ正常に局在できないことを明らかにできた。このことから、この 4 量体形成が、セントロメアの構築に必須であることがわかった。さらに、CENP-T/W/S/X4 量体は、DNA へ超らせんを導入する活性があることを見いだした。このことから、DNA は、CENP-T/W/S/X4 量体の周りを巻いた構造をとることが示唆された。これらの結果は、Cell 誌に論文発表した (Cell, 2012)。

#### 2) セントロメアタンパク質遺伝子のノックアウトマウスを用いた発がん実験

個体における発がんや染色体分配不全との関連を明らかにする目的で、昨年度までに確立した CENP-R のノックアウトマウスの表現型解析を行い、CENP-50(U)のノックアウトマウスと似た表現型をとることが明らかになった。しかし、CENP-50 のノックアウトマウスでは、CENP-R の局在が失われるのに対して、CENP-R のノックアウトマウスで CENP-50 (U)が局在していることから、CENP-R は、CEJNP-50 の下流に存在することが判明した。また、CENP-R のノックアウトマウスは、発がん物質に対して、明らかに感受性が強いという予備的な結果を得た。さらに、CENP-R 以外に表現型がマイルドであると予想される CENP-S 複合体タンパク質のノックアウトマウスの作成を目指し ES 細胞を樹立した。キメラマウスは作成できたが、ノックアウトマウスの作成には至っていない。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 5 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件            1. Nishino Tatsuya, Takeuchi Kozo, Gascoigne Karen E, Suzuki Aussie, Hori Tetsuya, Oyama Takuji, Morikawa Kosuke, Cheeseman Iain M, and <u>Fukagawa Tatsuo</u>.            CENP-T-W-S-X Forms a Unique Centromeric Chromatin Structure with a Histone-like Fold. <b>Cell</b> 148, 487-501 (2012).  <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411015704">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411015704</a>            2. Perpelescu Marinela, and <u>Fukagawa Tatsuo</u>.            The ABCs of CENPs. <b>Chromosoma</b> 120, 425-446 (2011).  <a href="http://www.springerlink.com/content/4188q57153443056/">http://www.springerlink.com/content/4188q57153443056/</a>            3. Gascoigne KE, Takeuchi Kozo, Suzuki Aussie, Hori Tetsuya, <u>Fukagawa Tatsuo</u>, and Cheeseman Iain M            Induced ectopic kinetochore assembly bypasses the requirement for CENP-A nucleosomes. <b>Cell</b> 145, 410-422 (2011)  <a href="http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411003084">http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867411003084</a>            (掲載済み一査読無し) 計 2 件            1. 深川竜郎 “セントロメアの構造” <b>生体の科学</b> Vol. 62、454-457、(2011)            2. 深川竜郎 “新しく見出された CENP-S/X 複合体” <b>生体の科学</b> Vol. 62、470-471、(2011)</p>
<p>会議発表 計 21 件</p>	<p>専門家向け 計 21 件            1. 西野達哉他、真核生物キネトコア構成因子 CENP-TWSX 複合体の構造と機能、仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            2. 竹内康造他、セントロメアに特異的な CENP-T-W-S-X ヒストンフォールド複合体は正のスーパーコイルを導入する活性を持つ、仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            3. 堀 哲也他、遺伝学的改変による人工セントロメアの創出、仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            4. 香川尚子他、Functional analyses of the CENP-O complex in mice、仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            5. Perpelescu, M.et al., CENTROMERE CHROMATIN REMODELING - A COOPERATIVE WORK, 仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            6. Wei-Hao Shang et al., Experimental creation of neocentromeres in chicken DT40 cells, 仙台市、2012/1/25~26、第 29 回染色体ワークショップ            7. Fukagawa, T., A unique centromeric chromatin structure in vertebrate cells, 横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            8. Osakabe, A. et al., Histone chaperone activity of a novel histone interacting factor SPT2, 横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            9. Hori, T. et al., Ectopic localization of CCAN proteins induces centromere formation in vertebrate cells, 横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            10. Nishimura, K. et al., Mcm8 and Mcm9 form a novel complex involved in resistance to DNA crosslinking reagents, 横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            11. Kitamura, H. et al., Interaction between the actin-related protein Arp6 and nuclear myosin I and their contribution to the nuclear, 横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            12. 竹内康造他、CENP-T-W-S-X 複合体は、動原体タンパク質群の集合機構に重要な役割を担う、横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            13. 橋本瑞代他、ニワトリ DT40 細胞を用いた MCM-BP(MCM-binding protein)の機能解析、横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            14. 西淵いくの他、DNA 損傷応答におけるヒストンバリエント H2A.Z isoform の関与、横浜市、2011/12/13~16、第 34 回日本分子生物学会年会            15. 深川竜郎、高等動物におけるキネトコア形成機構、京都市、2011/9/21~24、第 84 回日本生化学会大会            16. 深川竜郎、キネトコア構造を決定するエピジェネティックス機構、横浜市、2011/4/25、構造エピゲノム研究会第 3 回ワークショップ            17. Nishino,T. et al., Structural cell biochemistry of a novel histone fold vertebrate</p>

様式19 別紙1

	<p>kinetochore complex: CENP-TW and CENP-SX form a heterotetramer, デンバー(米国), 2011/12/3~6, 51th ASCB Annual Meeting          18. Nishino, T. et al., Structural cell biochemistry of a novel histone fold vertebrate kinetochore complex, ウェストダーバー(米国), 2011/7/11~15, Gordon Research Conferences :Chromosome Dynamics          19. Fukagawa, T., Genetic engineering of chicken centromeres, エジンバラ(イギリス), 2011/9/17~20, 6th International Chick Meeting          20. Fukagawa, T., Genetic engineering of vertebrate centromeres, ボストン(米国), 2011/11/16~17, The Boston Area Mitosis and Meiosis (BAMM) meeting          21. 深川竜郎、脊椎動物のセントロメア形成機構、三島市、2011/10/20~21、平成23年度遺伝研研究会「クロマチンダイナミクスの分子機構」主催研究会</p> <p>一般向け 計0件</p>
<p>図書 計0件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>国立遺伝学研究所 研究成果 (<a href="http://www.nig.ac.jp/section/result.html#shuppan">http://www.nig.ac.jp/section/result.html#shuppan</a> )          国立遺伝学研究所 分子遺伝研究部門 ニュース(<a href="http://www.nig.ac.jp/labs/MolGene/news_j.html">http://www.nig.ac.jp/labs/MolGene/news_j.html</a>)</p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. 「遺伝研出前講座」、2012/2/23、三島市立錦田中学校、中学1年生、遺伝研の概要、遺伝学の基本についての講義。174名          2. 「研究室訪問」、2011/8/29、遺伝研分子遺伝研究部門、静岡県立沼津西高校生物部、研究室が行っている研究内容についてわかりやすく説明した。7名</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計4件</p>	<p>1. Nature ダイジェスト、2012/3/25、26-27、セントロメアの研究からヒストンと似た新規のタンパク質がみつかった。          2. 日経バイオテク、2012/2/3、<a href="https://bio.nikkeibp.co.jp/">https://bio.nikkeibp.co.jp/</a>          3. マイナビ、2012/2/6、<a href="http://news.mynavi.jp/">http://news.mynavi.jp/</a>          4. YAHOO JAPAN ニュース、2012/2/6、<a href="http://headlines.yahoo.co.jp/hl">http://headlines.yahoo.co.jp/hl</a></p>
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されず

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	127,000,000	51,500,000	0	75,500,000	0
間接経費	38,100,000	15,450,000	0	22,650,000	0
合計	165,100,000	66,950,000	0	98,150,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未取利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	30,825,500	0	0	30,825,500	22,923,470	7,902,030	0
間接経費	15,450,000	0	0	15,450,000	15,450,000	0	0
合計	46,275,500	0	0	46,275,500	38,373,470	7,902,030	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	13,478,854	フリーザー、実験試薬、実験器具等
旅費	1,078,450	研究成果発表旅費(米国)等
謝金・人件費等	7,297,627	博士研究員等人件費、講演謝礼
その他	1,068,539	実験装置修理、学会参加費、学会誌投稿料等
直接経費計	22,923,470	
間接経費計	15,450,000	
合計	38,373,470	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
CO2インキュベータ	サンヨー MCO-19AIC	2	837,375	1,674,750	2011/5/6	国立遺伝学研究所
スキャナーボックス 対応レンズ	横川電機社製 CV1000-SP1用	1	712,215	712,215	2011/5/24	国立遺伝学研究所
超低温フリーザー	サンヨー MDF-394	1	882,000	882,000	2011/6/28	国立遺伝学研究所
超低温フリーザー	サンヨー MDF-U500VX	1	1,871,625	1,871,625	2011/6/30	国立遺伝学研究所
オートクレーブ	トミー精工 LSX-500	1	580,125	580,125	2011/7/29	国立遺伝学研究所
全自動洗浄機	ミーレ G7883LAB	1	945,000	945,000	2011/9/27	国立遺伝学研究所