

課題番号	LS122
------	-------

**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 24 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おり、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須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標としている。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。24 年度は、CENP-T がどのようにセントロメア形成に関わるかを細胞生物学見地と構造生物学的見地から明らかにすることを旨とした。具体的には、CENP-T と Spc24/25 の結合機構を機能、構造の両側面から明らかにすることを目的とする。また、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対象とした発がん実験を行い、がん化とセントロメアタンパク質との関わりを解析する。

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
 セントロメアタンパク質 CENP-T が DNA と結合することを昨年度示したが(Cell, 2012)、今年度は CENP-T が外部キネトコアとどのように関わるかを明らかにすることを試みた。はじめに、CENP-T が外部キネトコアタンパク質 Spc24/25 複合体と結合することを示した後、CENP-T の各種欠損変異タンパク質を作成して、CENP-T の N 末端側の 63-98aa の領域が結合に必須であることを明らかにした。また、Spc25 のノックアウト DT40 細胞を作成して、Spc25 の CENP-T 結合領域を同定できた。これらの細胞生物学の実験と平行して、CENP-T と Spc24/25 の共結晶について X 線構造解析を行ない、詳細な構造を明らかにできた。その結果、CENP-T と Spc24/25 のユニークな結合形式が明らかになった。これらの結果は、EMBO J 誌に論文発表した (EMBO J, 2012)。
 また、CENP-T の N 末端領域を非セントロメア領域に局在させ、人工的にセントロメアを作製することを試みた。驚くべきことに、CENP-T の異所局在で人工的なセントロメアを作製できた。この結果は、J. Cell Biol (2013)へ発表した。

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、CENP-R のノックアウトマウスを用いた発がん実験を行なった。その結果、CENP-R のノックアウトマウスの皮膚に発がん物質を塗りつけても、がんが成長しないで発がん進行が抑えられることが判明した。これは、CENP-R が抗がんの分子標的になることを示唆している。構成的セントロメアタンパク質と発がんとの関連が始めて明らかになった知見と言える。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 10 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 8 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nishino T, Rago F, Hori T, Tomii K, Cheeseman IM, and <u>Fukagawa T</u>. (2013). CENP-T provides a structural platform for outer kinetochore assembly. <i>EMBO J</i>. 32, 424-436. http://www.nature.com/emboj/journal/v32/n3/full/emboj2012348a.html 2. Hori T, Shang WH, Takeuchi K, and <u>Fukagawa T</u>. (2013). The CCAN recruits CENP-A to the centromere and forms the structural core for kinetochore assembly. <i>J. Cell Biol</i>. 200, 45-60. http://jcb.rupress.org/content/200/1/45.long 3. Krasikova A, <u>Fukagawa T</u>, and Zlotina A. (2012). High-resolution mapping and transcriptional activity analysis of chicken centromere sequences on giant lampbrush chromosomes. <i>Chromosome Res</i>. 20, 995-1008. http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10577-012-9321-0 4. Nishimura K, Ishiai M, Horikawa K, <u>Fukagawa T</u>, Takata M, Takisawa H, and Kanemaki MT. (2012). Mcm8 and Mcm9 form a complex that functions in homologous recombination repair induced by DNA interstrand crosslinks. <i>Mol. Cell</i> 47, 511-522. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276512004935 5. Hori, T, and <u>Fukagawa T</u>. (2012). Establishment of the vertebrate kinetochores. <i>Chromosome Res</i>. 20, 547-561. http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10577-012-9289-9 6. <u>Fukagawa T</u>. (2012). Formation of a centromeric-specific chromatin structure. <i>Epigenetics</i> 7, 672-675. http://www.landesbioscience.com/journals/epigenetics/article/20389/?nocache=1578787976 7. Maruyama EO, Hori T, Tanabe H, Kitamura H, Matsuda R, Tone S, Hozak P, Habermann FA, von Hase J, Cremer C, <u>Fukagawa T</u>, and Harata M (2012). The actin family member Arp6 and the histone variant H2A.Z are required for spatial positioning of chromatin in chicken cell nuclei. <i>J. Cell Sci</i>. 125, 3739-3743. http://jcs.biologists.org/content/125/16/3739.long 8. Takeuchi K, and <u>Fukagawa T</u>. (2012). Molecular architecture of vertebrate kinetochores. <i>Exp. Cell Res</i>. 318, 1367-1374. http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0014482712000924 <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 西野達哉, 深川竜郎 “セントロメア領域に特異的なクロマチン構造” 遺伝 Vol. 66, 552-558, (2012) 2. 深川竜郎 “セントロメアに存在するユニークなクロマチン構造” 実験医学増刊 Vol. 31, 187-192, (2013) ISSN978-4-7581-0328-2
<p>会議発表 計 21 件</p>	<p>専門家向け 計 20 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 深川竜郎、正確な染色体分配を保障するキネトコア構造、東京、2013/1/29、がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動公開シンポジウム 2. 越阪部晃永、深川竜郎他、新規ヒストン相互作用因子hsSpt2 の核小体クロマチンダイナミクスにおける機能、福岡市、2012/ 12/14~16、第 85 回日本生化学会大会 3. 西野達哉、深川竜郎、Structural biology of eukaryotic chromosome segregation machineries、福岡市、2012/ 12/14~16、第 85 回日本生化学会大会 4. 石黒啓一郎、深川竜郎他、減数分裂特異的のコヒーシ複合体のDSB非依存的な相同染色体ペアリングにおける役割、福岡市、2012/ 12/11~14、第 35 回日本分子生物学会年会 5. 西村浩平、深川竜郎他、Mcm8 とMcm9 は複合体を形成し、DNA二本鎖架橋修復時に引き起こされる相同組換え修復において働く、福岡市、2012/ 12/11~14、第 35 回日本分子生物学会年会 6. 堀 哲也、深川竜郎他、人工動原体の作出からあきらかになるセントロメアの形成メカニズム、福岡市、2012/ 12/11~14、第 35 回日本分子生物学会年会 7. 深川竜郎、Kinetochore specification and assembly in vertebrate cells、福岡市、2012/9/24~26、日本遺伝学会第 84 回大会 8. 西野達哉、深川竜郎、Structural cell biology of chromosome segregation machinery、札幌市、2012/9/19~21、第 71 回日本癌学会学術総会 9. 深川竜郎、Kinetochore structure, which ensures for accurate chromosome segregation、札幌市、2012/9/19~21、第 71 回日本癌学会学術総会 10. 西野達哉、深川竜郎他、新規セントロメア特異的ヒストン様複合体 CENP-TWSX の構造機能解析、名古屋市、2012/6/20~22、第 12 回日本蛋白質科学会年会 11. 深川竜郎、エピジェネティクスに規定されるセントロメアの形成機構、東京都、2012/5/14~15、6 回日本エピジェネティクス研究会年会 12. <u>Fukagawa, T.</u>, Kinetochore assembly, structure, and function, 横浜, 2013/1/23, 2nd Internation Symposium ISIDP

様式19 別紙1

	<p>13. Takeuchi, K., <u>Fukagawa, T.</u>, The Histone-fold CENP-T-W-S-X complex induces positive supercoils into DNA, サンフランシスコ(米国), 2012/12/15~19, 52th ASCB Annual Meeting</p> <p>14. <u>Fukagawa, T.</u>, Chromosome engineering to understand molecular architecture of vertebrate kinetochores, 淡路, 2012/11/25~28, The 8th 3R Symposium</p> <p>15. <u>Fukagawa, T.</u>, Structural Dynamics of a Key Interface with Spindle Microtubules, 横浜, 2012/10/10, The 2nd International Workshop on Structural Epigenomics</p> <p>16. <u>Fukagawa, T.</u>, Molecular architecture of vertebrate kinetochores, バルセロナ(スペイン), 2012/10/1~5, EMBO Workshop</p> <p>17. Hori, T., Shang, W.H., <u>Fukagawa, T.</u>, Ectopic Localization of CCAN proteins induces centromere formation in vertebrate cells, バルセロナ(スペイン), 2012/10/1~5, EMBO Workshop</p> <p>18. Nishino, T., <u>Fukagawa, T.</u>, New histone complex at eukaryotic centromere: CENP-T-W-S-X forms a unique chromatin structure, 2012/9/5~9, ロスコフ((フランス), Jacques Monod Conferences</p> <p>19. Hori, T., Shang, W.H., <u>Fukagawa, T.</u>, Molecular architecture of vertebrate kinetochores, ニューヨーク(米国), 2012/5/15~19, Cold Spring Harbor Laboratory meeting</p> <p>20. 深川竜郎、キネトコア形成の構造基盤、三島市、2012/10/18~19、平成 24 年度遺伝研研究会「染色体ドメインの形成と機能発現機構」主催研究会</p> <p>一般向け 計 1 件</p> <p>1. 深川竜郎、がん化を促進するセントロメア機能異常を解析する実験系の開発と応用、富士市、2013/1/22、産学官金連携フォーラム 2013</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(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 (http://www.nig.ac.jp/Research-Highlights.html?research_tags=2013)</p> <p>国立遺伝学研究所 分子遺伝研究部門 ニュース(http://www.nig.ac.jp/labs/MolGene/news.j.html)</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」、2013/1/9、沼津中央高校、特進クラス、生命の不思議さ、面白さについての講義。 30 名</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 10 件</p>	<p>1. 静岡新聞、2013/3/26、1 頁、セントロメア人工作製-がん創薬開発に期待</p> <p>2. 日経バイオテック、遺伝研の深川教授ら、セントロメアの欠失でネオセントロメアを高効率作製 https://bio.nikkeibp.co.jp/article/news/20130326/167024/</p> <p>3. マイナビニュース、NIGなど、画期的な染色体工学で「セントロメア」の謎の一部を解明 http://news.mynavi.jp/news/2013/03/29/140/index.html</p> <p>4. YAHOO JAPAN ニュース、画期的な染色体工学で「セントロメア」の謎の一部を解明 http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20130329-00000099-mycomj-sci</p> <p>5. @S[アットエス]、遺伝研がセントロメア人工作製-がん創薬開発に期待 http://headlines.yahoo.co.jp/hl?a=20130326-00000005-at_s-122</p> <p>6. BIO IMPACT、遺伝研の深川教授ら、セントロメアの欠失でネオセントロメアを高効率作製 http://bioimpact.jp/news/detail/298725</p> <p>7. メディアジャム、遺伝研がセントロメア人工作製-がん創薬開発に期待 http://mediajam.info/topic/2401885</p>

様式19 別紙1

	<p>8. マイナビニュース、遺伝研、DNAダメージ「DNA鎖間架橋」の修復に関連する複合タンパク質を発見 http://news.mynavi.jp/news/2012/07/06/103/index.html</p> <p>9. Exciteニュース、遺伝研、DNAダメージ「DNA鎖間架橋」の修復に関連する複合タンパク質を発見 http://www.excite.co.jp/News/it_biz/20120706/Cobs_ie_201207_dnadna.html</p> <p>10. メディアジャム、遺伝研、DNAダメージ「DNA鎖間架橋」の修復に関連する複合タンパク質を発見 http://mediajam.info/topic/2111011</p>
その他	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成24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	37,750,000	37,750,000	0
間接経費	38,100,000	15,450,000	11,325,000	11,325,000	0
合計	165,100,000	66,950,000	49,075,000	49,075,000	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 (未収利息を除 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	7,902,030	37,750,000	0	45,652,030	43,449,690	2,202,340	0
間接経費	0	11,325,000	0	11,325,000	11,325,000	0	0
合計	7,902,030	49,075,000	0	56,977,030	54,774,690	2,202,340	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	26,586,119	超解析顕微鏡装置、実験試薬、実験器具等
旅費	1,330,550	研究成果発表旅費(米国)等
謝金・人件費等	14,945,926	博士研究員等人件費、講演謝礼
その他	587,095	実験装置修理、学会参加費、学会誌投稿料等
直接経費計	43,449,690	
間接経費計	11,325,000	
合計	54,774,690	

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
レブコ超低温槽	サーモフィッシャーサイエ ンティフィック社・ULT-13	1	1,293,600	1,293,600	2012/6/11	国立遺伝学研究所
超解像顕微鏡装置	ニコンインテック 社・N-SIM-S	1	17,869,986	17,869,986	2012/8/9	国立遺伝学研究所
制御装置	ニコンインテック 社	1	1,038,952	1,038,952	2012/8/9	国立遺伝学研究所
除振台	ニコンインテック 社	1	1,020,062	1,020,062	2012/8/9	国立遺伝学研究所
顕微鏡用エビゾス テージ	ニコンインテック 社	1	3,049,200	3,049,200	2013/1/24	国立遺伝学研究所