

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570194

研究課題名(和文)減数分裂期染色体の動態制御分子機構の解明

研究課題名(英文)Studies of molecular mechanisms regulating meiotic chromosome dynamics

研究代表者

山本 歩 (Yamamoto, Ayumu)

静岡大学・理学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：70359082

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：減数分裂は精子や卵子などの配偶子形成に必要であり、相同染色体が組み換えによって生じたキアズマによって結合し、その分配が起こる。本研究では分裂酵母をもちい、相同染色体のキアズマの分配における役割、およびキアズマ形成に必要なテロメア集合機構の解析を行った。その結果、キアズマは染色体と紡錘体の結合形成において誤った結合の修正に重要な役割を果たすこと、およびテロメア集合はテロメアから微小管が形成され、その微小管と微小管モーター蛋白質の動きによって起こることを見いだした。

研究成果の概要(英文)：Meiosis is a type of cell division, which generates haploid gametes. During meiosis, homologous chromosomes become connected by recombination products called chiasmata. In this study, we examined roles of chiasmata in homologous chromosome segregation and the mechanism of telomere clustering, which is required for chiasma formation, in fission yeast. We found that chiasmata play critical roles in correcting erroneous attachments of chromosomes to the spindle, and that telomere clustering depends on microtubules emanating from the telomeres and microtubule motors.

研究分野：分子細胞生物学

キーワード：減数分裂 相同染色体 姉妹染色分体 キアズマ 微小管 動原体 テロメア

1. 研究開始当初の背景

減数分裂は次世代の個体を形成する配偶子の形成に必須であり、二回の染色体分配が続けて起こりゲノム量が半減する。この染色体分配機構の解明は基礎生物学的、医学的に重要な課題となっている。第一分裂は減数分裂特異的な分裂であり、姉妹染色分体が同一極と結合し、相同染色体が両極と結合することによって、相同染色体が紡錘体の両極に分配される。姉妹染色分体が同一極と結合するためには、減数分裂特異的なセントロメア構造によって姉妹染色分体の動原体が一方を向くことが必要であり、このセントロメア制御に減数分裂特異的なコヒーシン因子、モノポリン複合体などの因子が関与することが見出されている。我々も分裂酵母では接合フェロモン応答および DNA 複製制御因子である Mrc1 が関与することを見いだしている。

一方、相同染色体が両極と結合するためには、組み換えによって生じたキアズマによって相同染色体が物理的に結合することが必要であり、これによって相同染色体が両極と結合したときに動原体に張力が発生し、両極との結合が安定化すると考えられている。しかし、我々は減数分裂において姉妹染色分体が両極としばしば結合することを見いだしており、張力が発生して安定化するはずであるこの結合が、キアズマによって解消され、正しい結合に修正されることを見いだしている。そのため、張力に依存した機構ではキアズマによる染色体と紡錘体微小管の結合修正機構は説明できず、キアズマを介した結合形成機構はいまだはっきりとしていない。

2. 研究の目的

キアズマの減数分裂における役割を明らかにするために、分裂酵母を用いて以下の点の解明をめざす。

(1) 減数第一分裂の染色体分配における染色体と紡錘体微小管との結合修正におけるキアズマの機能の解明。

(2) キアズマの形成に必須なテロメア集合機構の解明

3. 研究の方法

(1) 結合修正におけるキアズマの機能解明

結合修正に関与する因子の欠損株を用い、キアズマ形成の有無において姉妹染色分体の分配、および染色体の動態を解析し、染色体と紡錘体の結合状態を解析する。これにより、キアズマの結合修正における機能を明らかにする。

(2) テロメア集合機構の解明

キアズマ形成に必須な相同染色体の対合を引き起こすテロメアの集合機構を明らかにするために、この集合に関与することが示唆されている微小管モーター、および微小管・それらの制御因子のテロメア集合にお

ける役割を解析する。またテロメア集合におけるテロメアの動態を解析し、テロメア集合機構を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 結合修正におけるキアズマの機能解明

キアズマの形成される細胞において第一染色体、および第二染色体のセントロメアを GFP で可視化し、姉妹染色分体の分配を解析した。このとき、姉妹染色分体のセントロメアの結合が維持され、姉妹染色分体が紡錘体両極に結合しても分離が見られないため、セントロメア結合維持に必須な Sgo1 因子を欠損させて分離を解析した(図1)。このとき結合修正に関わると考えられるスピンドル形成チェックポイント因子、オーロラキナーゼ、オーロラキナーゼの制御とスピンドル形成チェックポイント因子の制御に関わる Bub1 キナーゼの欠損を導入し、分配との関係性を解析した。

第一・第二染色体のいずれもキアズマが形

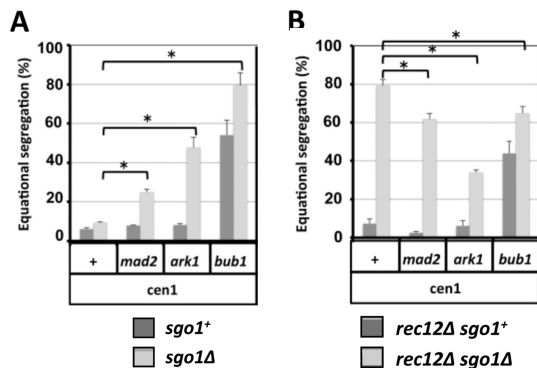


図1. 第一染色体の姉妹染色分体の分離頻度 (A)キアズマ形成 2 倍体細胞。(B)キアズマ形成ができない組み換え欠損 2 倍体細胞。セントロメアの結合維持に必要な Sgo1 因子の欠損の有無における分離頻度を示した。星印は有為な差を示す。

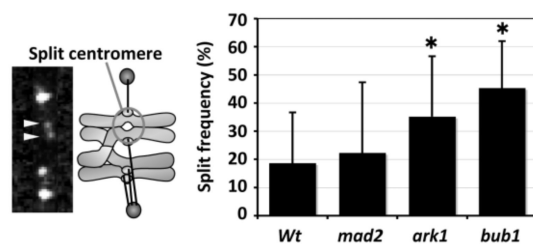


図2. 姉妹染色分体のセントロメアの分離動態解析によるセントロメアの分離頻度を示した。星印は有為な差を示す。

成される Sgo1 欠損細胞では、姉妹染色分体の分離はあまり起こらないが、結合修正因子が欠損すると、姉妹染色分体の分離が顕著に増加した(図1A)。また、動態解析を行ったところ、結合修正因子が欠損すると、染色体と紡錘体の結合形成時に姉妹染色分体のセントロメアの分離頻度が顕著に増加し(図2)、相同染色体同士のセントロメア間の距離が減少した。以上から、キアズマ存在下では結合修正因子の欠損により、姉妹染色分

の両極との結合が増加すると考えられた。

キアズマが形成されない Sgo1 欠損細胞では高頻度で姉妹染色分体の分離が起こるが、この分離頻度や結合修正因子の欠損によって顕著に減少した(図1B)。このことはキアズマがない場合には、結合修正因子が欠損すると、姉妹染色分体の一方の極への結合が増加することを示唆している。

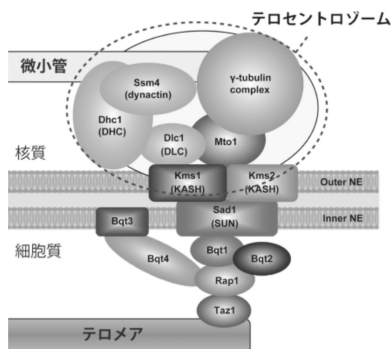
以上の結果から、結合修正因子の働きによって、キアズマ形成時には、姉妹染色分体の紡錘体の両極との結合が修正されて一方の極との結合が促進されるが、キアズマのない場合は反対に一方の極との結合が修正され、両極との結合が促進されると考えられた。

キアズマは結合修正因子によって修正される結合型の決定に関与し、この働きによって姉妹染色分体の一方の極との結合が促進されると考えられた。この結果はキアズマの新たな機能を始めて示したものである。また、体細胞分裂も含めた、張力に依存すると考えられている、染色体と紡錘体の結合形成機構の解明に寄与すると考えられ、ガン化にみられる染色体分配異常の解明にもつながると考えられる。

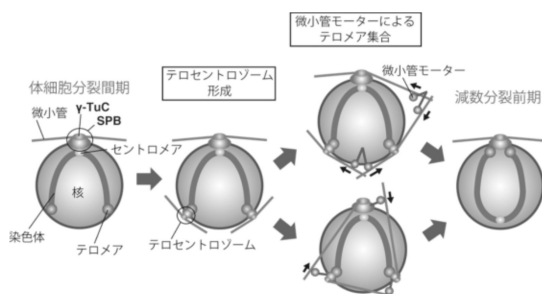
(2) キアズマの形成に必須なテロメア集合機構の解明

テロメア集合に微小管モーターおよび微小管が関与することを見いだした。また、微小管とテロメアの動態解析から、テロメアに SUN/KASH たんぱく質を含む種々の中心体構成因子が集積し、テロメアから微小管が形成されることを見いだした(図3A)。そして、テロメアから形成された微小管と分裂抗酵母の中心体である Spindle Pole Body (SPB)

A



B



(A)テロセントロゾームのモデル。(B)テロセントロゾームによるテロメア集合機構のモデル。

から形成された微小管によって、テロメア集合が起こることを見いだした。我々はこの新規構造体を「テロセントロゾーム」と名付け、テロセントロゾームを介したテロメア集合機構を提唱した(図3B)。また、テロメア集合に異常が生じると、減数分裂型のセントロメア形成に必要な動原体の崩壊が阻害され、テロメアがセントロメア制御に関与することを見いだした。

テロメア集合はほとんどの真核生物に見られ、さらに SUN/KASH 核膜蛋白質を介してテロメアが細胞骨格と相互作用して起こることが明らかとなっている。しかし、テロメアが細胞骨格によって、どのように集合するのかは明らかでなかった。本研究は細胞骨格によってどのようにテロメアが集合するかを始めて示したものである。また、この集合モデルは他の生物のテロメア集合も説明可能であり、他の生物のテロメア集合機構の解明に寄与すると考えられる。さらに、テロメアがセントロメアの制御に関与するということは、新規の現象であり、今後この機構の解明を行うことによって染色体制御の新たな側面が明らかになることが期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

(1) A. Yamamoto. Gathering up meiotic telomeres: a novel function of the microtubule-organizing center. *Cell Mol. Life Sci.* (査読有り) 71 (2014). 2119-2134. DOI: 10.1007/s00018-013-1548-1.

(2) Masashi Yoshida, Satoshi Katsuyama, Kazuki Tateho, Hiroto Nakamura, Junpei Miyoshi, Tatsunori Ohba, Hirotsada Matsuhara, Futaba Miki, Koei Okazaki, Tokuko Haraguchi, Osami Niwa, Yasushi Hiraoka, and Ayumu Yamamoto. Microtubule-organizing center formation at telomeres induces meiotic telomere clustering. *J. Cell Biol.* (査読有り) 200 (2013). 385-395. DOI: 10.1083/jcb.201207168

〔学会発表〕(計 8 件)

(1) 建穂 一樹

「テロメア集合はテロセントロゾーム形成によって起こる」
第 45 回酵母遺伝学フォーラム研究報告会、
2012 年 9 月 5 日、京都大学おうばくプラザ 京都府・宇治市)

(2) 建穂 一樹

「減数分裂におけるテロメア集合はテロメアに形成される微小管形成中心に依存する」

第 35 回日本分子生物学会年会、2012 年 12 月 13 日、福岡国際会議場（福岡県・福岡市）

（ 3 ）山本 歩

Meiotic telomere clustering depends on the telocentrosome, a novel microtubule-organizing center formed at the telomere.

第 7 回国際分裂酵母会議、2013 年 6 月 27 日、ロンドン（イギリス）

（ 4 ）山本 歩

「減数分裂期のセントロメア構造変換とテロメア集合のクロストーク」

第 31 回染色体ワークショップ、2013 年 11 月 25 日、ホテルおかだ（神奈川県・足柄下郡）

（ 5 ）建穂 一樹

「減数分裂におけるテロメア集合の制御機構」

第 36 回日本分子生物学会年会、2013 年 12 月 3 日、神戸ポートアイランド（兵庫県・神戸市）

（ 6 ）勝俣 和大

「減数分裂におけるテロメアの動原体制御」

第 66 回日本細胞生物学会大会、2014 年 6 月 11 日、奈良県新公会堂（奈良県・奈良市）

（ 7 ）勝俣 和大

「減数分裂におけるテロメア集合を介した動原体制御」

第 47 回酵母遺伝学フォーラム研究報告会、2014 年 9 月 2 日、東京大学弥生講堂（東京都・文京区）

（ 8 ）平安 亜美

「減数分裂のテロメア集合による動原体の構造変換制御」

第 37 回日本分子生物学会年会、2013 年 11 月 26 日、パシフィコ横浜（神奈川県・横浜市）

（ 9 ）山本 歩

「テロメア結合因子 Taz1 による減数分裂型セントロメアの形成制御」

第 3 回染色体ワークショップ、2013 年 12 月 17 日、安芸グランドホテル（広島県・廿日市）

〔その他〕

ホームページ等

（ 1 ）ホームページ

http://www.ipc.shizuoka.ac.jp/~sayamam/yamamoto_japanese_index.html

（ 2 ）研究成果データベース

<https://tdb.shizuoka.ac.jp/RDB/public/Default2.aspx?id=11039&l=0>

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

山本 歩（Yamamoto Ayumu）

静岡大学・理学研究科・教授

研究者番号：70359082