

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 19 日現在

機関番号：10101

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20114006

研究課題名（和文）プロテオミクスによる遺伝情報発現の場の理解

研究課題名（英文）Understanding of genetic field for functional expression by proteomic approach

研究代表者

小布施 力史 (OBUSE CHIKASHI)

北海道大学・大学院先端生命科学研究所・教授

研究者番号：00273855

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：染色体・細胞核・発現制御・発生分化・プロテオーム

## 1. 研究計画の概要

遺伝情報発現制御の場を支える分子基盤、構造基盤を理解するために、染色体 DNA 上に形成される機能構造体の構成蛋白質をプロテオミクスにより同定し、その機能を明らかにすることを目的とした。具体的には、セントロメアやテロメアに恒常的に存在するヘテロクロマチン (constitutive heterochromatin) の構成因子である HP1 (heterochromatin protein 1) に結合する因子 100 種類をヒト細胞から同定しており、それらの因子の機能解析をとおして遺伝情報発現制御の場を支える分子基盤、構造基盤の解明を目指す。特に、ヘテロクロマチンが持つ常に凝縮した染色体構造、発現制御を担う機能構造体との相互作用、染色体の空間的配置、の3者間にあるクロストークを明らかにし、ヘテロクロマチンが関与する染色体の折りたたみや空間配置による遺伝子発現制御の理解を目的としている。

## 2. 研究の進捗状況

(1) われわれが HP1 結合因子として見いだした POGZ、SEN7、TIF1b、HBI1、AHDC1 において、HP1 をはじめとする相互作用タンパク質との結合に必要なアミノ酸を、タンパク質にアミノ酸置換を導入し、酵母 2 ハイブリッド法、あるいは、免疫沈降法により同定した。

(2) HP1 結合因子の中でも特異な HP1 との結合様式を示す POGZ に特に着目して解析を進めた。POGZ を RNA 干渉法により機能阻害を行うと姉妹染色体合着、キネトコア形成、M 期チェックポイント機能が欠損することを発見した。また、POGZ のモノクローナル抗

体の作製、POGZ 結合因子 (POGBP1、POGBP2) のクローニングおよび抗体作製を行った。

(3) 機能阻害、あるいは、変異タンパク質との置換実験による表現型の解析をさらに詳細に検討した。POGZ の機能阻害によって、HP1 および Aurora B キナーゼ、INCENP が M 期染色体腕部から解離しないこと、Aurora B キナーゼの活性化が起こらないことが明らかとなった。さらに、HP1 と POGZ との相互作用の詳細な解析により、他の HP1 結合因子が PxVxL モチーフを介して HP1 と結合するのに対して、POGZ は特殊な Zn フィンガーを介して PxVxL タンパク質と競合的に HP1 と結合することが明らかになった。G2 期の細胞において、POGZ はこの競合的な結合により、HP1 と結合している INCENP および HP1 を染色体から解離させる役割があることが明らかとなった。また、この過程は Aurora B の活性化に必要であることを見いだした。Aurora B の M 期における活性化は、キネトコア形成、チェックポイントの確立など正常な染色体分配に必要不可欠であり、その制御に POGZ が HP1 を介して関与するモデルを提案することができた。

(4) POGZ 以外の新規 HP1 結合因子 3 種類について、機能解析を進めた。SEN7 は SUMO 化を介した HP1 の局在化の促進に関与すること、HBP66 は polIII と直接結合して転写制御に関与すること、HBI1 は X 染色体の不活性化に関与する因子の局在に関与すること、が示唆された。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

POGZ の解析をとおして、HP1 およびヘテロクロマチンが Aurora B キナーゼの局在及び活性を制御しているという重要な役割を発見でき、Nature Cell Biology 誌に掲載することができた。また、この研究は、Nature Review Cancer 誌で紹介される等、世界的に注目されている。また、HbiX1 など、間期に特異的な染色体領域を凝縮させるための分子メカニズムの解明に寄与する分子を発見することができたことから、研究計画達成のための今後の展開が期待できる。

#### 4. 今後の研究の推進方策

高等動物における、エピジェネティクスの制御の要であるヘテロクロマチンネットワークを司る分子が明らかとなった。これを踏まえて、遺伝学や細胞生物学的な手法を基盤に、これまで培ったプロテオミクス、次世代シーケンサーを用いた解析技術を駆使して、ヘテロクロマチンが染色体上のどこに形成され、間期の凝縮がどのように起き、如何に転写等の昨日発現制御に関与しているのか、それらの分子メカニズムにアプローチする予定である。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 13 件)

- ①Abe S., Nagasaka K., Hirayama Y., Aoytagi Y., Obuse C. and Hirota T. The initial phase of chromosome condensation requires Cdk1-mediated phosphorylation of the CAP-D3 subunit of condensin II., *Genes & Dev.*, in press, (2011), 査読有
- ②Nozawa R.S., Nagao K., Masuda H., Iwasaki O., Hirota T., Nozaki N., Kimura H., and Obuse C., Human POGZ modulates HP1 dissociation from mitotic chromosome arms through Aurora B activation., *Nature Cell Biol.*, **12**, 719-727, (2010), 査読有
- ③Kiyomitsu T., Iwasaki O., Obuse C. and Yanagida M., Inner centromere formation requires hMis14, a trident kinetochore protein that specifically recruits HP1 to human chromosomes., *J. Cell Biol.*, **188**, 791-807, (2010) 査読有
- ④Perpelescu M., Nozaki N., Obuse C., Yang H. and Yoda Y., Active establishment of centromeric CENP-A chromatin by RSF complex., *J. Cell Biol.*, **185**, 397-407, (2009) 査読有
- ⑤Uehara R., Nozawa R., Tomioka A., Petry S., Vale R. D., Obuse C. and Goshima G., The augmin complex plays a critical role in

spindle microtubule generation for mitotic progression and cytokinesis in human cells., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **106**, 6998-7003, (2009), 査読有

[学会発表] (計 53 件)

- ①野澤竜介、小布施力史、プロテオミクスによるヘテロクロマチンが構成する遺伝情報の階層性の理解、BMB2010、2010年12月9日、神戸市
- ②野澤竜介、小布施力史、POGZ modulates HP1 dissociation from mitotic chromosome arms for correct activation of Aurora B kinase in human cells., 75th Symposium: Nuclear Organization & Function, 2010年6月2日、ニューヨーク
- ③小布施力史、プロテオミクスによるヘテロクロマチンの構築とダイナミクスの解明、BMB2009、2009年12月9日、横浜市
- ④野澤竜介、小布施力史、pogo トランスポゾン由来のジンクフィンガー蛋白質 POGZ は HP1 との結合を介して染色体分配に関与する、第 82 回日本生化学会大会、2009年10月24日、神戸市
- ⑤小布施力史、A HP1-Interacting zinc-finger protein POGZ/ZNF280E is involved in mitotic chromosome, CSHL meeting on Dynamic organization of nuclear function, 2008年9月17日、ニューヨーク

[図書] (計 6 件)

- ①野澤竜介、長尾恒治、小布施力史、洋土社、実験医学、(2010)、2983-2987
- ②野澤竜介、長尾恒治、小布施力史、秀潤社、細胞工学、(2010)、868-870
- ③小布施力史、東京化学同人、分子生物学、(2010)、109-133
- ④長尾恒治、野澤竜介、小布施力史、秀潤社、細胞工学、(2009)、81-90
- ⑤野澤竜介、小布施力史、洋土社、実験医学、(2009)、123-130