

研究種目：特別推進研究
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17002014
 研究課題名（和文） 染色体の均等分裂と還元分裂の違いを作る分子機構
 研究課題名（英文） Mechanisms that lead to the difference in equational and reductional chromosome segregation
 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
 研究者番号：20212326

研究成果の概要：

体細胞が増殖分裂する過程で、複製された染色体のコピーが娘細胞へ均等に分配されるためには、染色体の中心部分にある動原体が反対方向からのスピンドル微小管によって捕らえられることが重要である。このためには、細胞分裂のときに、動原体部分の接着が維持されていることと、その向きが正しく制御されることが必要である。この過程には、我々が酵母において発見し命名したシュゴシンと Moa1 というタンパク質が本質的な役割を持つことが明らかになった。この機構は、ヒトにおいても保存されていると考えられる。

交付額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	88,300,000	26,490,000	114,790,000
2006 年度	89,830,000	26,949,000	116,779,000
2007 年度	61,600,000	18,480,000	80,080,000
2008 年度	50,200,000	15,060,000	65,260,000
年度			
総計	289,930,000	86,979,000	376,909,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・遺伝・ゲノム動態

キーワード：遺伝学、ゲノム

1. 研究開始当初の背景

均等分裂と還元分裂の違いを作り出す分子機構の解析は最近までほとんど手つかずであった。近年の我々の分裂酵母を用いた研究により、染色体の接着を司る染色体接着因子コヒーシンおよびその保護因子シュゴシンにその違いを作り出す要因があることが示唆された(図1)。しかし同時に、コヒーシンとシュゴシンだけでは均等分裂と還元分裂の違いを作り出すのに十分ではなく、これらの因子以外の未知の因子が作用していることも示唆された。

2. 研究の目的

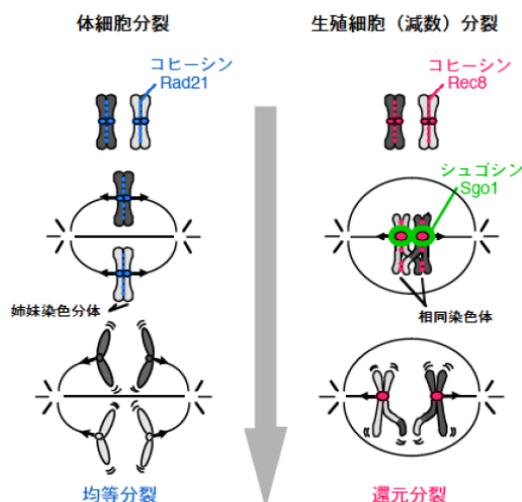


図1 二元化した染色体分配

本研究では、分子遺伝学的手法が可能な分裂酵母を用いて、二つのゲノム伝達様式の違いを作り出す因子を検索する。さらに動物細胞の解析も行うことにより真核生物に広く保存された二つのゲノム伝達様式の制御基盤を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

酵母を用いた分子遺伝学的手法により、還元分裂特異的に作用する未知の因子を地道に同定し、それらの分子機能をコヒーシンおよびシュゴシンとの関連において解析していくことが最も確実な手法であると考えられる。さらに酵母で得られた結果と比較しながら動物細胞の解析も平行して進め、より一般的な概念の構築を目指す。

4. 研究成果

(1) 以前の解析で、動原体の一方方向性の確立にはコヒーシン Rec8 に加え別の減数分裂特異的な因子も同時に働く必要があることが示唆された。この新たな因子を探索する目的で、独自の遺伝学的スクリーニング系を構築し実施した。その結果、新規動原体因子 Moa1 (monopolar attachment) を単離することに成功した。Moa1 は還元分裂が起きる減数第一分裂で特異的に発現してセントロメアに局在し、均等分裂が起きる減数第二分裂ではもはやセントロメアへの局在は見られない。さらに、Moa1 はセントロメアの中央領域に特異的に局在し、Rec8 と直接相互作用することも分かった。これらの結果は、Moa1 が Rec8 と協調して、セントロメア中央領域の動原体の接着を促進することにより一方方向性の確立を促進していることを示唆する(図2)。本研究内容は、国際的にも高い評価が得られ、Cell 誌に掲載された。

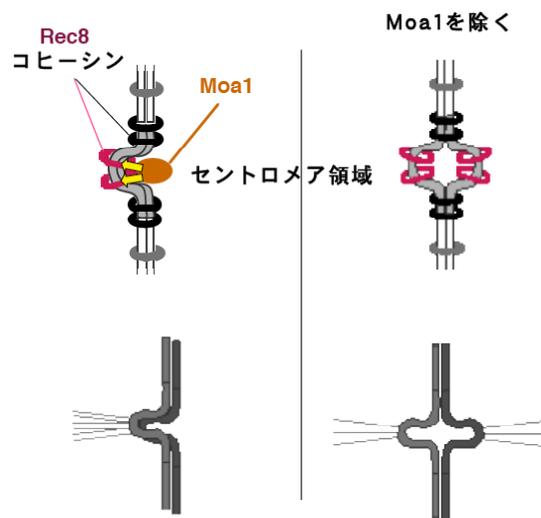


図2

(2) 一方、還元分裂の動原体のもう一つの特徴

として、セントロメアの接着が守られる点が上げられる。シュゴシンは、もともと減数分裂のときにセントロメアの接着因子コヒーシンを守る因子として、我々が酵母を用いて発見したもので、配列上、広く真核生物一般に保存されたタンパク質と考えられる。ヒト培養細胞を用いてシュゴシン・ホモログの機能解析を行ったところ、当初の予想に反してシュゴシンが体細胞分裂過程でもセントロメアの接着を守る機能を果たしていることが分かった。酵母と異なり、動物細胞では染色体の凝集が高度に起きるため、それに伴うコヒーシンの解離 (Prophase pathway) をセントロメアで守る必要があったのである(図3)。一方、マウスの卵培養系を用いて、RNAi によりシュゴシンの発現を抑制したところ、マウスのシュゴシン Sgo2 が還元分裂でのセントロメアの接着の保護に必須の機能をもつことが判明し、還元分裂におけるシュゴシンの機能が普遍的に保存されていることが明確になった。本研究の内容は同時期に Cell 誌に掲載された競合論文と同程度のインパクトがあり、Current Biology 誌に掲載された。

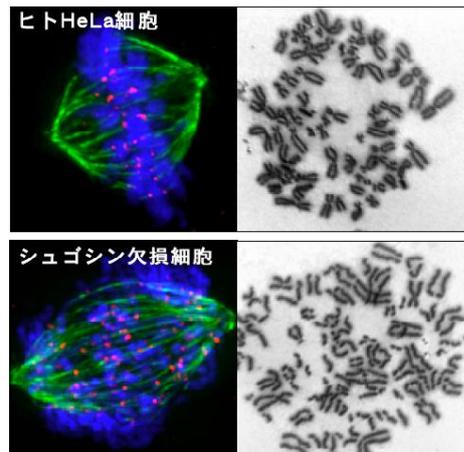


図3

(3) また、シュゴシンがセントロメアでコヒーシンを保護する分子機構についても、大きな進展があった。シュゴシンが脱リン酸化酵素 PP2A を動原体へ呼び込む、コヒーシンのリン酸をはずすことにより染色体から解離するのを阻止していることを明らかにした(図4)。この PP2A による染色体の接着を守る機構は、ヒトの培養細胞のみならず酵母およびマウスの減数分裂においても保存されていることも合わせて示し、真核生物がもつ染色体接着保護の本質的な分子機構であることを示した。本研究は、国際的に非常に高い評価を得て、Nature 誌の中でも特別インパクトの高い Article として掲載された。

(4) シュゴシンは進化上保存された動原体タン

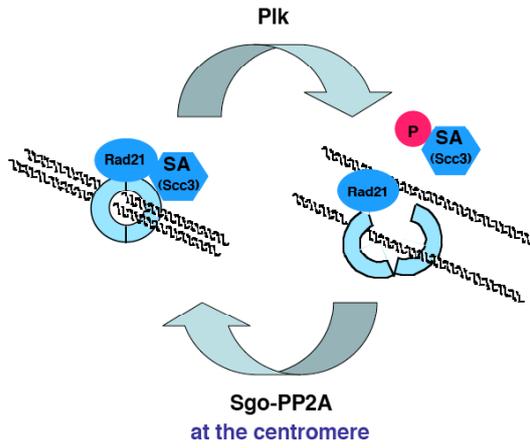


図4

パク質であり、分裂酵母には Sgo1 および Sgo2 の二つのパラログが存在する。Sgo2はSgo1とは異なり、分裂期において姉妹セントロメア間の接着の保護には必要なく、その代わりに SAC (Spindle Assembly Checkpoint) の活性化に重要な働きをもつことが分かった。この表現型がオーロラキナーゼの変異株と似ていることから、Sgo2 がオーロラキナーゼのセントロメアへの局在化を促進することにより、動原体のスピンドル微小管への結合様式を制御していることが明らかになった(図5)。これにより、新たなシュゴシンの機能を見出すことができた。本研究内容は、国際的にも高く評価され Genes & Development 誌に掲載された。

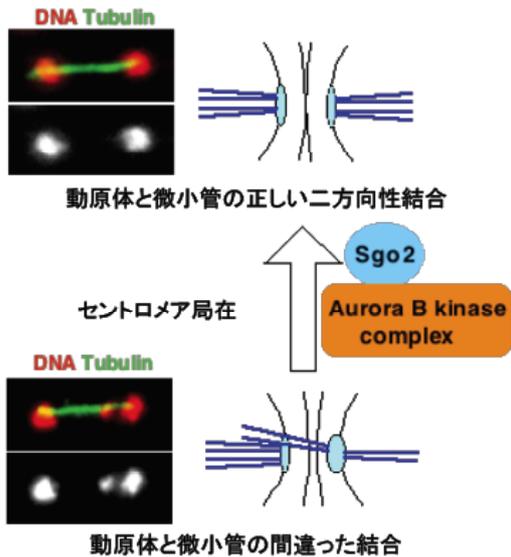


図5

(5)シュゴシンは、もともと減数分裂のときにセントロメアのコヒーシンをセパレーズの切断から守る因子として酵母から単離されたものである。今回、我々は、哺乳動物の卵細胞を用いて、姉妹染色分体が同じ方向へ引っ張られる減数第一分裂においては、シュゴシン Sgo2 がセントロメア

のコヒーシンをセパレーズの切断から保護していることを明らかにした。これにより、以前に我々が酵母で見つけた減数第一分裂期でのセントロメアの接着保護機構が、動物を含めた真核生物一般で広く保存されていることが証明された。しかし一方では、この事実は、哺乳動物のシュゴシンが体細胞分裂の前期において、コヒーシスがセパレーズ非依存的に解離するのをセントロメアで保護するが、分裂後期のセパレーズの切断から保護しないという以前の報告と一見矛盾する。この矛盾は、以下の発見によって解決された。すなわち、セントロメアのコヒーシスは動原体(セントロメア)が反対方向から引っ張られていないとき(体細胞分裂の前期および減数第一分裂の全過程)はシュゴシンによって守られているが、体細胞あるいは減数第二分裂の分裂中期にセントロメアに反対方向の張力がかかると、シュゴシンがコヒーシスから局所的に離れ、その保護機構が解除されることを明らかにした(図6)。これらの結果は、シュゴシンがセントロメアの接着を守る様式について、体細胞分裂および減数分裂いずれにも通じる統一した見解を提示するものである。セントロメアの接着保護は、分裂中期に動原体が二方向から捉えられるためには必須の役割をするが、その後の分裂後期において、染色体が分離するときにはむしろ邪魔になると考えられる。今回我々が見出した張力依存的なセントロメア脱保護機構は、この矛盾を解決する理にかなった分子機構といえる。本研究内容は、シュゴシンの機能の統合的理解を提示したものとして国際的にも高く評価され Nature Cell Biology 誌に掲載された。

(6)染色体の特にセントロメア近傍にはヘテロクロマチンが形成されることが広く知られているが、

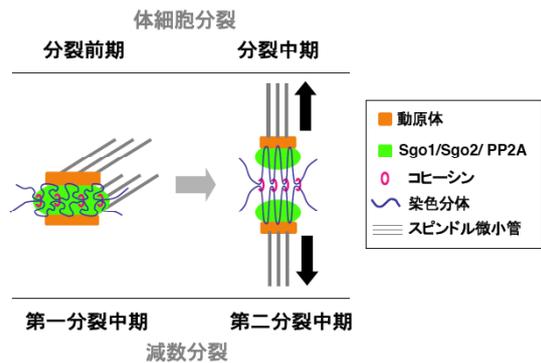


図6

その主要な役割はよく分かっていなかった。本研究では、ヘテロクロマチンの主要構成因子 HP1 タンパク質がシュゴシンと直接相互作用することを見出した。ヘテロクロマチン欠損株は染色体分配欠損を示すが、シュゴシンを人為的にセントロメアに局在化させることにより、正常な染色体分配が回復することを示した(図7)。これにより、ヘテロクロマチンの主要な役割がシュゴシ

ンをセントロメアに局在化させることにあることが明らかになった。この結果は、酵母の細胞を用いて発見したことであるが、ヒトの細胞にも保存された染色体のもつ本質的なメカニズムであることも合わせて示した。本研究内容は、謎の多かったヘテロクロマチンの染色体分配における機能を明確にしたという点で国際的にも高く評価され、Nature 誌に掲載された。

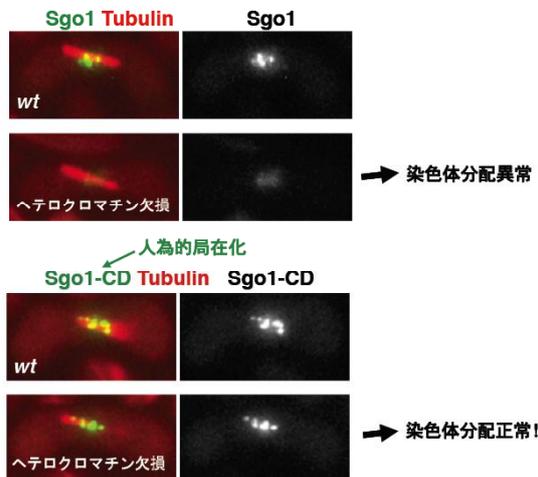


図7

5. 主な発表論文等

(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 14 件)

- ① Yamagishi, Y., Sakuno T., Shimura, M. and Watanabe, Y.; Heterochromatin links to centromeric protection by recruiting shugoshin. *Nature* 455, 251-255 (2008)
- ② Eot-Houllier, G., Fulcrand, G., Watanabe, Y., Magnaghi-Jaulin, L. and Jaulin, C.; Histone deacetylase 3 is required for centromeric H3K4 deacetylation and sister chromatid cohesion. *Genes Dev.* 22, 2639-2644 (2008)
- ③ Omran, H., Kobayashi, D., Olbrich, H., Tsukahara, T., Loges, N. T., Hagiwara, H., Zhang, Q., Leblond, G., O'Toole, E., Hara, C., Mizuno, H., Kawano, H., Fliegau, M., Yagi, T., Koshida, S., Miyawaki, A., Zentgraf, H., Seithe, H., Reinhardt, R., Watanabe Y., Kamiya, R., Mitchel, D. R. and Takeda, H.; Ktu/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 456, 611-616 (2008)
- ④ Lee, J., Kitajima, T.S., Tanno, Y., Yoshida, K., Morita, T., Miyano, T., Miyake, M., and Watanabe, Y.; Unified mode of centromeric protection by shugoshin in mammalian oocytes and somatic cells. *Nature Cell Biol.* 10, 42-52 (2008)
- ⑤ Hauf, S., Biswas A., Langegger, M., Kawashima, S.A., Tsukahara, T., and Watanabe, Y.; Aurora controls sister kinetochore mono-orientation and homolog bi-orientation in meiosis-I. *EMBO J.* 26, 4475-4486 (2007)
- ⑥ Kawashima, S.A., Tsukahara, T., Langegger, M., Hauf, S., Kitajima, T.S. and Watanabe, Y.; Shugoshin enables tension-generating attachment of kinetochores by loading Aurora to centromeres. *Genes Dev.* 21, 420-435 (2007)
- ⑦ Kitajima, T. S., Sakuno, T., Ishiguro, K., Iemura, S., Natsume, T., Kawashima, S. A., and Watanabe, Y.; Shugoshin collaborates with protein phosphatase 2A to protect cohesin. *Nature* 441, 46-52 (2006)
- ⑧ Watanabe, Y.; A one-sided view of kinetochore attachment in meiosis. *Cell* 126, 8-10 (2006)
- ⑨ Harigaya, Y., Tanaka, H., Yamanaka, S., Tanaka, K., Watanabe, Y., Tsutsumi, C., Chikashige, Y., Hiraoka, Y., Yamashita, A. and Yamamoto, M. Selective elimination of messenger RNA prevents an incidence of untimely meiosis. *Nature* 442, 45-50 (2006)
- ⑩ Watanabe, Y.; Shugoshin: guardian spirit at the centromere. *Curr. Opin. Cell Biol.* 17, 590-595 (2005)
- ⑪ Yokobayashi, S. and Watanabe, Y.; The kinetochore protein Moa1 enables cohesion-mediated monopolar attachment at meiosis I. *Cell* 123, 803-817 (2005)
- ⑫ Kitajima, T. S., Hauf, S., Ohsugi, M., Yamamoto, T., and Watanabe, Y.; Human Bub1 defines the persistent cohesion site along the mitotic chromosome by affecting shugoshin localization. *Curr. Biol.* 15, 353-359 (2005)
- ⑬ Watanabe, Y.; Sister chromatid cohesion along arms and at centromeres. *Trends Genet.* 27, 405-412 (2005)
- ⑭ Watanabe, Y.; The importance of being Smc5/6. *Nature Cell Biol.* 7, 329-331 (2005)

[学会発表] (計 20 件)

- ① Sakuno, T., Tada, K. and Watanabe, Y. : Kinetochores geometry defined by cohesion within the centromere, Chromosome Segregation Centromeres and Kinetochores, in Arcachon, France. (9/27-10/2, 2008) (invited speaker, chair)
- ② Watanabe, Y. : The Primary requirement of SWI6/HP1 for meiotic chromosome segregation, Asia-Pacific Regional *S.pombe* Meeting, in Singapore, (7/25-7/27, 2008) (invited speaker, chair)
- ③ Watanabe, Y. : Two distinct categories of centromeric cohesion determine the orientation of kinetochores, FASEB Summer Research Conference, in Arizona, U.S.A. (6/22-6/27, 2008) (invited speaker)
- ④ Watanabe, Y. : Direct link between heterochromatin and centromeric protector shugoshin, Gordon Research Conference on Meiosis, in New Hampshire, U.S.A. (6/8-6/13, 2008) (invited speaker, chair)
- ⑤ Watanabe, Y. : Distribution of cohesion within the centromere regulates kinetochores geometry, LRI Symposium on Chromosome Biology, in London, U. K. (5/28-5/30, 2008) (invited speaker)
- ⑥ Watanabe, Y. : Two distinct categories of centromeric cohesion determine the orientation of kinetochores, Chromosome and genome stability & instability, in Osaka, Japan. (11/7-11/8, 2007) (invited speaker)
- ⑦ Watanabe, Y. : Unified mode of centromeric protection by shugoshin in germ and somatic cells, 8th European Meiosis Meeting in Japan, in Shonan, Japan. (9/13-9/18, 2007) (invited speaker, chair)
- ⑧ Watanabe, Y. : Unified mode of centromeric protection by shugoshin in mammalian oocytes and somatic cells, 32th FEBS Congress Molecular Machines, in Vienna, Austria. (7/7-7/12, 2007) (invited speaker)
- ⑨ Sakuno, T. and Watanabe, Y. : Pericentromeric cohesion is sufficient for the suppression of the chromosome segregation defect in *swi6Δ*, Forth international Fission Yeast Meeting, in Copenhagen, Denmark. (6/11-6/16, 2007)
- ⑩ Kawashima, S.A., Tsukahara, T., Langegger, M., Hauf, S., Kitajima, T.S. and Watanabe, Y. : Shugoshin enables tension-generating attachment of kinetochores by loading Aurora to centromeres, Forth international Fission Yeast Meeting, in Copenhagen, Denmark. (6/11-6/16, 2007)
- ⑪ Watanabe, Y. : Centromeric cohesion is crucial for chromosome segregation, Forth international Fission Yeast Meeting, in Copenhagen, Denmark. (6/11-6/16, 2007) (invited speaker, chair)
- ⑫ Watanabe, Y. : Centromeric cohesion is crucial for chromosome segregation, Joint Meeting of JSDB & JSCB, in Fukuoka, Japan. (5/28-5/30, 2007) (invited speaker, chair)
- ⑬ Watanabe, Y. : Fission yeast Shugoshins play crucial roles in chromosome segregation, The 7th MBSJ Spring Symposium, in Hyogo, Japan. (4/23-4/24, 2007) (invited speaker)
- ⑭ Watanabe, Y. : Shugoshin collaborates with PP2A to protect cohesin, FASEB Summer Research Conference, in California, U.S.A. (6/24-6/29, 2006) (invited speaker, chair)
- ⑮ Watanabe, Y. : Shugoshin collaborates with PP2A to protect cohesin, IUBMB, in Kyoto, Japan. (6/18-6/23, 2006) (invited speaker)
- ⑯ Sakuno, T., Kawashima, S., Kitajima, T. S., and Watanabe, Y. : Shugoshin collaborates with PP2A to protect centromeric Rec8 at meiosis, Gordon Research Conference on Meiosis, in New Hampshire, U.S.A. (6/11-6/16, 2006) (invited speaker)
- ⑰ Watanabe, Y. : Shugoshin collaborates with protein phosphatase 2A to protect centromeric cohesion, Cell Cycle and Development, Nagoya (11/21-11/22, 2005) (invited speaker)
- ⑱ Watanabe, Y. : Sister Chromatid Cohesion at the Centromeric Central Core Regulates Kinetochores Orientation, International Symposium "DNA Replication and Cell Cycle, Tokyo (10/10-10/11, 2005) (invited speaker)
- ⑲ Watanabe, Y. : Regulation of kinetochores orientation in meiosis, 7th European Meiosis Meeting, in Madrid, Spain (9/13-9/18, 2005) (invited speaker)
- ⑳ Watanabe, Y. : Regulation of kinetochores orientation in meiosis, XXIInd International Conference on Yeast Genetics and Molecular Biology, in Slovak Republic (8/7-8/12, 2005) (invited speaker)

〔図書〕(計 1 件)

- ① Tanaka, K. and Watanabe, Y. Sister Chromatid Cohesion and Centromere Organization in Meiosis *Genome Dynamics and Stability - Recombination and Meiosis: Crossing-over and Disjunction* Richard Egel & Dirk Lankenau, Eds. (Springer Verlag) Vol.2, 57-75 (2007)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 1 件)

名称：タンパク質相互作用、抗がん剤、並びにそれらのスクリーニング方法

発明者：夏目徹、渡邊嘉典、北島智也

権利者：独立行政法人産業技術総合研究所

種類：特許

番号：特願 2006- 2924

出願年月日：出願日 H18 年 1 月 10 日

国内外の別：国内

〔その他〕

○新聞報道 (計 8 件)

- ① 生殖細胞の細胞分裂 カギ握るたんぱく質発見 (日経産業新聞 2005. 12. 2)
- ② 減数分裂の必須たんぱく質 ダウン症・不妊症解明へ (日刊工業 2005. 11. 29)
- ③ 生殖細胞分裂で重要たんぱく質 東大などのチーム発見 (日本経済新聞 2005. 12. 2)
- ④ 生殖細胞分裂 カギ握るたんぱく質発見 不妊症など原因究明に道 (化学工業新聞 2005. 12. 2)
- ⑤ 「減数分裂」に必要なたんぱく質 東大教授ら発見 不妊症など原因究明に光 (読売新聞 2005. 12. 7)
- ⑥ 均等分裂、仕組み解明 東大、ダウン症研究に道 (日経産業新聞 2009. 4. 14)
- ⑦ 染色体を動かす“動原体”方向づけのメカニズム -渡邊・東大教授ら解明- (科学新聞 2009. 4. 24)
- ⑧ 染色体の分裂一部解明 (朝日新聞 2009. 5. 1)

6. 研究組織

(1) 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
研究者番号：20212326

(2) 研究分担者

なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者

作野 剛士 (SAKUNO TAKESHI)
東京大学・分子細胞生物学研究所・
特任助教
研究者番号：10504566