

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成26年5月30日現在

機関番号： 12601
研究種目：特別推進研究
研究期間：2009～2012
課題番号：21000010
研究課題名（和文）ゲノム伝達の中核にある染色体動原体の方向性を決める分子機構
研究課題名（英文）Molecular mechanisms that determine kinetochore orientation acting at the heart of genome transition
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
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）298,900,000円、（間接経費）89,670,000円

研究成果の概要（和文）：動原体の一方方向性の決定がセントロメア中央領域の接着によって決まっていることを証明した。相同染色体間の減数分裂の組み換えが、動原体の一方方向性結合を保証していることを示した。シュゴシン・PP2A（脱リン酸化酵素）複合体が、コヒーシン保護において拮抗するキナーゼを同定した。さらに、染色体分配の要となる ICS（インナーセントロメア・シュゴシン）ネットワーク、染色体を形づくるための普遍的な制御機構を発見した。

研究成果の概要（英文）：We have proven that cohesion at the core centromere defines mono-orientation of kinetochores. We show that chiasmata between homologous chromosomes ensure mono-orientation. We identified the kinase antagonizing shugoshin-PP2A. We further identified the inner centromere-shugoshin (ICS) network that is critical for chromosome segregation and the conserved regulatory mechanism of shaping chromosomes.

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：染色体、セントロメア、接着因子コヒーシン、シュゴシン、コンデンシン

## 1. 研究開始当初の背景

(1)複製したゲノムを反対方向へ分配する（均等分裂）か同じ方向へ運ぶ（還元分裂）かは、ある意味まったく正反対のことである。我々のグループは、この違いを作り出す過程に染色体接着因子コヒーシンが重要な役割を果たしていることを示唆してきたが、その具体的な分子機構については分かっていた。 (2)シュゴシンは染色体の接着を保護する因子として同定されたが、その分子機能および制御機構については未知の点が多かった。 (3)染色体の分配には、染色体のセントロメアおよび動原体部位の構造が重要な働きをするが、その構築の分子基盤はよく分かっていた。

## 2. 研究の目的

(1)染色体接着因子コヒーシンが、具体的にどのような分子機構によって動原体の方向を制御しているか、その分子機構を解明する。 (2)全ての生物に保存されたシュゴシンの

分子機能およびセントロメアへの局在化機構を解き明かす。

(3)染色体の構造の分子基盤を、セントロメアと動原体部位に焦点を絞り明らかにする。

## 3. 研究の方法

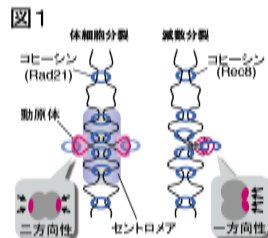
(1)動原体の方向と接着の関係を、酵母の分子遺伝学および細胞生物学的手法を駆使して明らかにする。

(2)動物細胞の体細胞分裂期には、2つのシュゴシンSGO1とSGO2が存在する。これらの因子の共通の機能及びそれぞれの特化した機能を、生化学的手法及び細胞生物学的手法により解明する。さらに、シュゴシンのセントロメア局在に必要なBub1キナーゼの基質を同定し、局在化機構の全貌を明らかにする。

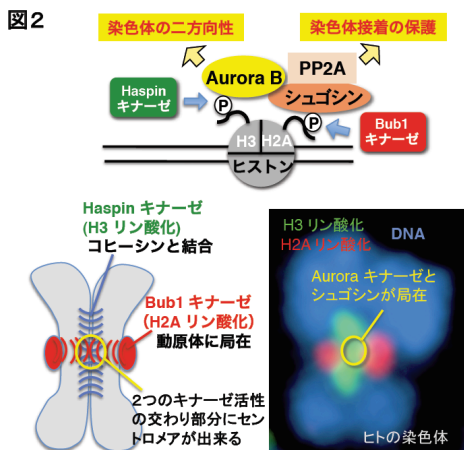
(3)染色体の分子的構造基盤の中核をなすコンデンシン・タンパク質の動原体での機能を、酵母およびヒト細胞で並行して調べる。

#### 4. 研究成果

(1) 動原体近辺の DNA を局所的に切り出して、その部分の接着を調べる実験系を開発し、セントロメア周辺の接着部位と動原体の方向性の間に強い相関があることを明らかにした。すなわち、2つの染色体の動原体の中央部分だけ接着を解除してその近傍のみを接着させることにより動原体を反対方向へ向かせ、逆に動原体の中央部分を接着させることにより同じ方向へ向かせるという分子メカニズムを明らかにした (図 1)。このことは、真核生物の染色体一般に通じる根本原理と考えられる。



(2) シュゴシンは、脱リン酸化酵素 PP2A を呼び込むことによって、染色体の接着を守る。今回、シュゴシンは、これとは独立に染色体の二方向性を規定するオーロラキナーゼと複合体を形成して、染色体のセントロメアに局在することを明らかにした。このとき、染色体全体に存在するヒストン複合体の構成因子である H2A と H3 が、セントロメア近傍で特異的なアミノ酸のリン酸化を受け、それらをめがけてシュゴシンとオーロラキナーゼの複合体が局在することを突き止めた。また、この2つのヒストンのリン酸化は、動原体に局在する Bub1 キナーゼと、染色体ペアの接着部位に局在する Haspin キナーゼによって担われており、これらのリン酸化が空間的に交わった部位にセントロメアが形成されることを意味する (図 2)。このセントロメア形成機構を ICS (インナーセントロメア・シュゴシン) ネットワークと命名した。



さらに、ICS ネットワークの最上流に位置する Bub1 キナーゼの動原体への局在機構も明らかにした。酵母とヒトの細胞の解析から、この機構が広く保存されていることを証明した。本研究は、染色体のセントロメアという場が空間的にどのように規定されるかと

いう生物学の根本的な問題を解決した。さらにヒト SG02 が染色体の整列を制御するタンパク質 MCAK をセントロメアに局在化させる機能をもつことも明らかにした。

(3) 染色体が分配されるときに、動原体が正しくスピンドル微小管によって捕らえられる必要がある。また、染色体が絡まることなく正しく分かれるには、染色体の腕部が‘縮む’ことが重要である。コンデンシンは、染色体を凝縮させる働きをするタンパク質として知られていた。本研究では、コンデンシンが染色体の動原体に特異的に局在することによってコンパクトな動原体の構造を構築し、スピンドル微小管が正しく染色体を捕らえることを保証していることを明らかにした。また、コンデンシンが染色体 DNA 上に均一に存在するヒストン複合体の一つのタンパク質 H2A を足場に局在することを発見した。本研究により、染色体の形と分離の動的制御について根本的な理解が得られた。

#### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 27 件)

以下、主要論文のみ

1. Yamagishi, Y., Yang, CH., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Mps1/Mph1 phosphorylates the kinetochore protein KNL1/Spc7 to recruit SAC components. *Nature Cell Biol.* 14, 746-752 (2012) 査読有 doi: 10.1038/ncb2515.
2. Watanabe, Y. Geometry and force behind kinetochore orientation: lessons from meiosis (review article). *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 370-382 (2012) 査読有 doi:10.1038/nrm3349
3. Morimoto, A., Shibuya, H., Zhu, X., Kim, J., Ishiguro, K., Han M, Watanabe, Y. A conserved KASH domain protein associates with telomeres, SUN1, and dynactin during mammalian meiosis. *J. Cell Biol.* 198,165-72. (2012) 査読有 doi: 10.1083/jcb.201204085.
4. Sakuno, T., Tanaka, K., Hauf, S., & Watanabe, Y. Repositioning of Aurora B promoted by chiasmata ensures sister chromatid mono-orientation at meiosis I. *Dev. Cell* 21, 534-545 (2011) 査読有 doi:10.1016/j.devcel.2011.08.012.
5. Tada, K., Susumu, H., Sakuno, T., & Watanabe, Y. Condensin association with histone H2A shapes mitotic chromosomes. *Nature (article)* 474, 477-483 (2011)

- 査読有 doi: 10.1038/nature10179.
6. Yamagishi, Y., Honda, T., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Two histone marks establish the inner centromere and chromosome bi-orientation. **Science** 330, 239-243 (2010)  
査読有 doi: 10.1126/science.1194498
  7. Tsukahara, T., Tanno, Y., & Watanabe, Y. Phosphorylation of the CPC by Cdk1 promotes chromosome bi-orientation. **Nature** 467, 719-723 (2010)  
査読有 doi: 10.1038/nature09390.
  8. Tanno Y., Kitajima T.S., Honda, T., Ando Y., Ishiguro K., & Watanabe, Y. Phosphorylation of mammalian Sgo2 by Aurora B recruits PP2A and MCAK to centromeres. **Genes Dev.** 24, 2169-2179 (2010)  
査読有 doi: 10.1101/gad.1945310.
  9. Ishiguro, T., Tanaka, K., Sakuno, T., & Watanabe, Y. Shugoshin-PP2A counteracts Casein Kinase 1-dependent cleavage of Rec8 by separase. **Nature Cell Biol.** 12, 500-506 (2010)  
査読有 doi:10.1038/ncb2052
  10. Kawashima, S.A., Yamagishi, Y., Honda, T., Ishiguro, K., & Watanabe, Y. Phosphorylation of H2A by Bub1 prevents chromosomal instability through localizing shugoshin. **Science (article)** 327, 172-177 (2010)  
査読有 doi:10.1126/science.1180189
  11. Tanaka, K., Chang, H.L., Kagami, A., & Watanabe, Y. CENP-C functions as a scaffold for effectors with essential kinetochore functions in mitosis and meiosis. **Dev. Cell** 17, 334-343 (2009)  
査読有  
doi:10.1016/j.devcel.2009.08.004
  12. Sakuno, T., Tada, K., & Watanabe, Y. Kinetochore geometry defined by cohesion within the centromere. **Nature (article)** 458, 852-858 (2009)  
査読有 doi:10.1038/nature07876

〔学会発表〕 (計 25 件)

以下、主要招待講演のみ

1. Watanabe, Y. : The spindle assembly checkpoint (SAC) network links directly to chromosome alignment, Cell Biology of Yeasts, in New York, USA (8 Nov., 2013)
2. Watanabe, Y. : Cohesin Rad21L mediates DSB-independent homolog pairing in mouse spermatocytes, EMBO

- Workshop on: Meiosis, in Dresden, Germany (18 Oct., 2013)
3. Watanabe, Y. : The major mechanism of chromosomal instability in cancer cells, Wenner-Gren Foundations International Symposium “*Meiosis and chromosome segregation – a mammalian perspective*”, in Stockholm, Sweden (30 Aug., 2013)
  4. Watanabe, Y. : Tension across centromeres refines centromeric protection by shugoshin, EMBO Workshop on: Structure, Function & Regulation of Centromeres and Kinetochores, in Barcelona, Spain (3 Oct., 2012)
  5. Watanabe, Y. : Tension across centromeres changes centromeric protection by shugoshin, FASEB Mitosis: Spindle Assembly and Function, in Colorado, USA (8 Aug., 2012)
  6. Watanabe, Y. : Chromosome segregation in meiosis, FASEB Yeast Chromosome Structure, Replication & Segregation, in Colorado, USA (18 July, 2012)
  7. Watanabe, Y. : Pairing might be promoted by identical cohesin distribution patterns between homologs, Gordon Research Seminar: The 2012 Meiosis Gordon Research Conference, in New London, USA (6 June, 2012)
  8. Watanabe, Y. : Histone marks for shugoshin-CPC localization prevent chromosomal instability, Epigenetics meeting, in Adelaide, AUS (8 May, 2012)
  9. Watanabe, Y. : Aurora B-dependent condensin association with histone H2A shapes mitotic chromosomes, Sixth international Fission Yeast Meeting, in Boston, USA (27 June, 2011)
  10. Watanabe, Y. : Spatiotemporal regulation of chromosome architecture by Aurora B, The 6th UK-Japan Cell Cycle Workshop, in Windermere, U. K. (12 April, 2011)
  11. Watanabe, Y. : Shugoshin impacting on eukaryotic chromosome segregation, Integrated aspects of molecular cell biology, in Lion, France (9 Nov., 2010)
  12. Watanabe, Y. : Interplay of kinetochore geometry and tension determines chromosome orientation during mitosis and meiosis, FASEB Summer Research Conference, in Arizona, USA (10 Aug., 2010)

13. Watanabe, Y., Tanaka, K., Sakuno, T. : Interplay of kinetochore geometry and tension determines chromosome orientation during meiosis, Gordon Research Conference on Meiosis, in New Hampshire, USA (10 June, 2010)
14. Watanabe, Y. : Phosphorylation of H3 and H2A establishes the inner centromere and chromosome bi-orientation, The LXXV Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology Nuclear Organization & Function, in New York, USA (7 June, 2010)
15. Watanabe, Y. : Regulation of centromeric localization of shugoshin, The EMBO conference on meiosis (1<sup>st</sup>), in Sorgue, France. (22 Sep., 2009)
16. Watanabe, Y. : Identification of the primary Bub1 substrate impacting on chromosome segregation, Late summer meeting (Chromosome Dynamics), in Vienna, Austria. (10 Sep., 2009)
17. Watanabe, Y. : Aurora B mediated phosphorylation of hSgo2 is crucial for chromosome congression and centromeric protection, International Workshop on Chromosome Segregation Machinery, in Tokyo, Japan (5 June, 2009)
18. Watanabe, Y. : Kinetochore orientation is elaborately regulated by cohesion within the centromere, Gordon Research Conference on Chromosome Dynamics, in Il Ciocco Hotel and Resort Barga, Italy (27 May, 2009)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

○新聞報道 (4件)

1. 生殖細胞への関与物質特定  
(日経産業新聞 2014.3.11)
2. 染色体分配の基本原理の解明  
(読売新聞 2013.3.21)
3. 染色体分配の基本原理の解明  
(朝日新聞 2013.3.21)
4. 染色体の分配制御仕組みを発見  
(毎日新聞 2009.12.1)

○ホームページ

[http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab/watanabe\\_lab/Home.html](http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/watanabe-lab/watanabe_lab/Home.html)

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

(3) 連携研究者

なし