

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 15日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2009～2011

課題番号：21687015

研究課題名（和文） 減数分裂組み換えと染色体分配を連携させる微小管新規機能の研究

研究課題名（英文） Analysis of novel functions of microtubules that bridge meiotic recombination and chromosome segregation

研究代表者

佐藤 政充（SATO MASAMITSU）

東京大学・大学院理学系研究科・助教

研究者番号：50447356

研究成果の概要（和文）：本研究では、分裂酵母の減数分裂において見られる新規の微小管構造が、減数分裂組み換えとその後の染色体分配という2つの現象を連携させる機能を持つことを実証した。また、その分子メカニズムについても解析を行い、特定の微小管結合タンパク質が通常とは異なる部位に局在することで、減数分裂特有の難しい染色体分配を克服していることが分かった。

研究成果の概要（英文）：We focused on a novel microtubule array that is seen in fission yeast meiosis, and verified that the microtubule array play a role in relaying meiotic recombination and meiotic chromosome segregation. We also investigated the molecular mechanism how the array is formed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	6,700,000	2,010,000	8,710,000
2010年度	6,100,000	1,830,000	7,930,000
2011年度	6,000,000	1,800,000	7,800,000
総計	18,800,000	5,640,000	24,440,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・細胞生物学

キーワード：細胞分裂・細胞周期・染色体分配・微小管・減数分裂組み換え

1. 研究開始当初の背景

(1) 染色体の配置が染色体分配に与える影響
細胞増殖期では、染色体の中央部であるセントロメアは中心体（SPB）の近くに存在している。これは、中心体から形成された微小管が直ちにセントロメアを捕捉できるという利点がある。

減数分裂においては、両親由来の染色体を組み換えて遺伝子の多様性を生み出すことに貢献している。そのためにはセントロメアを中心体から遠くに配置する必要がある。これは減数分裂組み換えのためには重要であるが、中心体とセントロメアとの間に距離があ

るために、その後の減数第一分裂における染色体分配のためには不利になる可能性もある。しかしながら、細胞はその不利を克服して減数分裂を遂行している。しかし、そのような機構は一切知られていなかった。

(2) 特殊な微小管構造の発見

我々は当初、減数分裂組み換えの後、減数第一分裂が開始する直前に、核内に特殊な微小管構造が出現することを発見した。この微小管が、中心体から遠くに散らばったセントロメアをすべて集めて中心体にまとめているように観察された。我々は、この微小管が、減数分裂組み換えと染色体分配を両立させるた

めの未知の機構の正体であると考え、その機能の証明を目指した。

2. 研究の目的

(1) 特殊な微小管がもつ生物学的意義に迫る減数第一分裂開始時に形成される特殊な微小管は、実際に減数分裂組換えと減数第一分裂を連携させる意義を持つか、すなわち、染色体分配において重要な役割を担っているかを解明する。

(2) 微小管の制御機構

この特殊な微小管構造はどのようにして染色体の配置を転換させているのか。微小管制御因子や細胞周期制御因子が本現象に関与しているかを調べる。

3. 研究の方法

本研究では微小管と染色体の相互作用の分子メカニズムとその生物学的意義について、細胞生物学的、遺伝学および生化学的アプローチから総合的に研究を進める。第一に、減数分裂特異的な微小管制御に関わる微小管結合タンパク質を独自の3色ライブイメージングシステムを適用して同定する。第二に、微小管結合タンパク質のセントロメアへの局在を促進するセントロメア構成因子を遺伝学的、生化学的アプローチによって単離する。第三には、発現プロファイルデータベースを利用した新規微小管・セントロメア構成因子の同定をおこなう。

4. 研究成果

本現象に必要な因子を顕微鏡観察によって検索したところ、微小管結合タンパク質である TACC-TOG 生物種を超えて保存された微小管結合タンパク質である TACC-TOG 複合体(分裂酵母名 Alp7-Alp14 複合体)、もう一つの TOG である Dis1, Dam1 複合体の関与が明らかになった。これに対して、微小管上の物質運搬に関与するといわれているキネシタンパク質 Kinesin-14 である Pkl1, Klp2, およびダイニンは本現象には関与していないことが分かった。このことから、本現象は、これまでに特殊な人工的な条件下で調べられてきた染色体の運搬アッセイ実験とは一線を画する新しい現象であることが明確になった。

これらの変異体では、減数分裂組換えの後に、核内に散らばるセントロメアを中心体に集めることができず、次に起きる減数第一分

裂において重篤な染色体分配異常を引き起こすことが分かった。したがって、本現象は、実際に生物学的な意義をもつものであることが証明された。

これらの各種微小管結合タンパク質に GFP (緑色蛍光タンパク質) を融合した株を作製し、これらのタンパク質の細胞内局在をライブ観察した結果、TACC-TOG (Alp7-Alp14) が、微小管結合タンパク質であるにもかかわらず、微小管以外にも減数第一分裂開始時のセントロメアに局在することが分かった。この複合体は分裂期キナーゼである Polo キナーゼの活性に依存してセントロメアに局在することが分かった。

前述のとおり、この TACC-TOG 複合体を破壊すると、第一分裂の開始時にセントロメアを中心体に集められず、第一分裂において重篤な染色体分配異常を引き起こす。しかし、TACC-TOG 複合体複合体を破壊した場合、微小管構造全体が脆弱になってしまったため、セントロメアに局在していた TACC-TOG 複合体が重要であったのか、については本実験から結論は出せなかった。そこで、本研究では、セントロメア特異的に TACC-TOG が局在できなくなるような TACC-TOG の変異体を単離することを試み、成功した。このセントロメア特異的な TACC-TOG 変異体では、セントロメアが微小管と安定して結合することができないことが分かった。

また、生化学的な実験から、TACC-TOG はセントロメア (動原体) タンパク質である Nuf2 複合体と相互作用することが分かった。その結合は、Polo の活性によって強まった。

上記を踏まえると、本研究の成果は次のようにまとめられる。

(1) 特殊な微小管構造が形成されることで、組換え時に生じたセントロメアの遠方配置が解消される。この過程に欠陥があると第一分裂に大きな影響が出るため、この過程の生物学的な意義が証明された。

(2) 微小管がセントロメアを効率的に捕捉するためには、微小管結合タンパク質である TACC-TOG (Alp7-Alp14), TOG/Dis1, Dam1 複合体などが重要な役割を担うことが分かった。これまで予想されていた因子のうち、キネシンやダイニンは関与しないことが分かった。また、予想外のことに、TACC-TOG 複合体がセントロメアに局在することを発見し、この局在はセントロメアと微小管の安定相互作用のために重要であることが証明された。その分子メカニズムとして、Polo キナーゼの活性に依存して TACC-TOG とセントロメアタンパク質 Nuf2 との結合が強まることが分かった。

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7件)

① Midori Ohta, Masamitsu Sato, Masayuki Yamamoto

Polo kinase reconstitutes the spindle pole body during fission yeast meiosis

Molecular Biology of the Cell, 査読有、2012, 23:1799-1811

doi:10.1091/mbc.E11-11-0951

② Takashi Akera, Masamitsu Sato, Masayuki Yamamoto

Interpolar microtubules are dispensable in fission yeast meiosis II

Nature Communications, 査読有、2012, 3: 695-702

doi: 10.1038/ncomms1725

③ Shin-ya Okamoto, Masamitsu Sato, Takashi Toda, Masayuki Yamamoto

SCF ensures meiotic chromosome segregation through a resolution of meiotic recombination intermediates

PLoS ONE, 査読有、2012, 7:e30622

doi:10.1371/journal.pone.0030622

④ Yasutaka Kakui, Masamitsu Sato, Kayoko Tanaka and Masayuki Yamamoto

A novel fission yeast mei4 mutant that allows efficient synchronization of telomere dispersal and the first meiotic division

Yeast, 査読有、2011, 28:467-479

doi:10.1002/yea.1851

⑤ Kunio Arai, Masamitsu Sato, Kayoko Tanaka and Masayuki Yamamoto

Nuclear compartmentalization is abolished during fission yeast meiosis

Current Biology, 査読有、2010, 9: 1913-1918.

doi:10.1016/j.cub.2010.09.004

⑥ Chii Shyang Fong, Masamitsu Sato and Takashi Toda

Fission yeast Pcp1 links polo kinase-mediated mitotic entry to γ -tubulin-dependent spindle formation

EMBO Journal, 査読有、2010, 29:120-130

doi:10.1038/emboj.2009.331

⑦ Masamitsu Sato, Naoyuki Okada, Yasutaka Kakui, Masayuki Yamamoto, Minoru Yoshida

and Takashi Toda

Nucleocytoplasmic transport of Alp7/TACC organizes spatiotemporal microtubule formation in fission yeast

EMBO reports, 査読有、2009, 10: 1161-1167

doi:10.1038/embo.2009.158

[学会発表] (計8件)

① 佐藤政充

How is interpolar microtubule regulated? The 6th International Fission Yeast Meeting, 2011年6月27日, Boston, USA

② 佐藤政充

How are microtubules reorganised upon entry into mitosis and meiosis in fission yeast?

The 6th UK-Japan Cell Cycle Workshop, 2011年4月12日, Windermere, UK

③ 佐藤政充

Microtubule reorganisation upon entry into Mitosis and Meiosis in fission yeast
EMBO conference, Microtubules, 2010.6.2-5, ドイツ、EMBL

④ 佐藤政充

Meiosis-specific behaviour of microtubules, kinetochores and spindle pole bodies in fission yeast

日本細胞生物学会, 2010.5.19-21, 大阪国際会議場

⑤ 佐藤政充

染色体分配における分裂酵母 CDK の役割

染色体ワークショップ, 2010.1.20-22, 御殿場高原ホテル B. U.

⑥ 佐藤政充

REGULATION OF SPINDLE MICROTUBULES IN MITOSIS AND MEIOSIS

The 5th International Fission Yeast Meeting, 2009年10月29日, 代々木

⑦ 佐藤政充

Regulation of Microtubule Formation in Fission Yeast Mitosis and Meiosis

International Symposium: Chromosome Segregation Machinery, 2009年6月5日, 癌研究会癌研究所

⑧ 佐藤政充

Nuclear microtubule formation and chromosomal behaviours in fission yeast meiosis

日本細胞生物学会, 2009年6月4日, 名古屋

国際会議場

〔その他〕
ホームページ等

<http://msmicrotubule.blogspot.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 政充 (SATO MASAMITSU)
東京大学・大学院理学系研究科・助教
研究者番号：50447356

(2) 研究分担者

該当者なし

(3) 連携研究者

該当者なし