

平成25年度(基盤研究(S))研究概要(採択時)

【基盤研究(S)】

生物系(生物学)



研究課題名 染色体分配を制御するセントロメアの分子基盤の解明

国立遺伝学研究所・分子遺伝研究系・教授

ふかがわ たつお
深川 竜郎

研究分野: 遺伝・染色体動態

キーワード: 染色体再編・維持、染色体構築・機能・分配、エピジェネティクス

【研究の背景・目的】

生物の生命維持には、染色体が安定に保持・増殖されなければならない。染色体分配に狂いが生じると染色体の異数化など細胞に対する悪影響が生じる(染色体不安定化)。染色体分配が正確に遂行されるために必要な分子機構を解明することは、遺伝学における本質的かつ重要な課題の一つである。

本研究では、高等動物の染色体分配機構に必須なセントロメア構造の形成機構や細胞分裂の制御におけるセントロメア機能の解明を目指した研究を行う。これまでに我々は、世界に先駆けての新規セントロメア構成因子の同定や、各種ノックアウト細胞の表現型解析を通じたセントロメア構成因子の機能解析を進めてきたが、本研究では、我々がこれまでに推進してきたセントロメアに関する基礎研究をベースとして、セントロメアの分子基盤の解明を目指す。

【研究の方法】

本研究の遂行には、多角的なアプローチが必須であり、DT40細胞を用いた染色体工学、試験管内でのセントロメアタンパク質複合体の再構成を目指した生化学、タンパク質複合体の原子レベルでの構造理解を目指す構造生物学の手法を用いる。具体的には、以下の3つの計画を平行に進める。

I) 染色体工学を活用したセントロメアの形成機構の解明

セントロメア領域は、通常、染色体上の決まった場所に規定されるが、非セントロメア領域が何らかの理由でセントロメア化することも知られている(ネオセントロメア現象)。本研究では、どのようにセントロメアが規定されるかを知る目的で、DT40細胞を用いて実験的にネオセントロメアを作出する実験系を確立する。また、この実験系とバクテリアのLacO-LacIのシステムを併用して、各種セントロメアタンパク質を非セントロメア領域に局在化させ、人工セントロメアの作成を目指す(図1)。

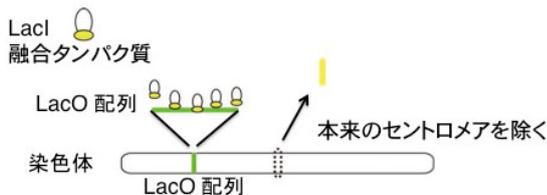


図1 人工セントロメア作出の試み

II) セントロメア構成タンパク質の試験管内再構成

セントロメアは、DNAと多数のタンパク質で構成

される巨大複合体であり、セントロメア機能を理解するためには、個々の構成タンパク質の性質を明らかにしなければならない。本研究では、いくつかのセントロメアタンパク質を発現・精製して試験管内で(サブ)複合体の再構成を行う。再構成された複合体の機能は、DNAや微小管との結合活性を解析することで評価する。

III) セントロメアタンパク質複合体の原子レベルでの構造基盤の解明

再構成されたタンパク質複合体は、X線結晶構造解析を行い、原子レベルでの構造決定も行う。また、得られた構造を参考に、複合体形成に重要と予想されるアミノ酸に変異を加えた細胞を作成し、その複合体形成の生物学的意義を細胞生物学的に検証する。

【期待される成果と意義】

我々がこれまでの研究で得てきた知識に、本研究で得られる結果が加わることによって、セントロメア構造の分子基盤がより明らかになると期待される。特に、遺伝学的研究で得られた成果と生化学・構造生物学・細胞生物学研究を統合させる試みは、学術的に大変意義深い。得られた構造の生物学的意義の検証を独自の系で速やかに遂行できるという点において、我々は世界をリードできる位置にいると考えている。さらに、将来的には、タンパク質構造に立脚した創薬研究へと発展できる可能性も秘めており、その意義は高い。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Nishino T et al., CENP-T-W-S-X forms a unique centromeric chromatin structure with a histone-like fold. *Cell*, 148, 487-501 (2012).
- Hori T et al., CCAN makes multiple contacts with centromeric DNA to provide distinct pathways to the outer kinetochore. *Cell*, 135, 1039-1052 (2008).

【研究期間と研究経費】

平成25年度-29年度
166,000千円

【ホームページ等】

http://www.nig.ac.jp/labs/MolGene/index_j.html
tfukagaw@nig.ac.jp