

研究種目： 特定領域研究

研究期間： 2007～2011

課題番号： 19057008

研究課題名（和文）M期キナーゼによる分裂装置構成分子の動態制御

研究課題名（英文）Kinetic control of mitotic apparatus by mitotic kinases

研究代表者

広田 亨 (HIROTA TORU)

財団法人癌研究会癌研究所・実験病理部・部長

研究者番号：50421368

研究分野：生物系

科研費の分科・細目：細胞増殖制御

キーワード：細胞分裂、分裂期キナーゼ、リン酸化、染色体、紡錘体

## 1. 研究計画の概要

細胞が分裂する際に安定したゲノムを分配することは生命体維持の基本であり、その制御機構の体系的理解は細胞増殖の根本的課題である。細胞分裂の進行はサイクリン依存性キナーゼによって調節されるが、加えて、Aurora やPoloといった分裂期キナーゼが、染色体や紡錘体の構築およびその動態の制御に、より直接的な役割を担っていることが明らかになってきた。本研究では、ヒトの細胞において、染色体および紡錘体を構成する分子群が、これらの分裂期キナーゼによってどのような制御されているのかを生化学的・顕微鏡的手法によって明確にすることを目的とした。細胞分裂はダイナミックな分子メタボリズムを基盤とした動的な過程であると捉えて、特に生細胞の観察およびFRAP解析に力をいれ、分子動態の定量的な解析を試みた。

## 2. 研究の進捗状況

### (1) 微小管、動原体、染色体といった分裂装

置及びM期サイクリンを蛍光色素標識した細胞を樹立し、M期進行に伴う分裂装置の動態を生細胞において観察するための実験系を整備した。また FRAP 解析技術を導入し、リン酸化による分子動態制御の検討を可能とした。

(2) Aurora B はヒストン H3 と HP1 $\alpha$  をリン酸化してクロマチンから解離させることを報告したが (Hirota et al., 2005)、引き続いて、分裂期における解離した HP1 $\alpha$  の動態を調べた。まず、HP1 $\alpha$  は M 期特異的に Aurora B によってリン酸化を受けることと、リン酸化サイトの一つが Ser92 であることが分かった。リン酸化 HP1 $\alpha$  の大部分は細胞質に存在したが、興味深いことに一部のリン酸化 HP1 $\alpha$  は Aurora B/染色体パッセンジャー複合体 (CPC) と相互作用し、その結果セントロメアに局在することが、免疫沈降法や免疫染色法によって判明した。

(3) さらに HP1 $\alpha$  と Aurora B の結合は HP1 $\alpha$  Ser92 のリン酸化によって安定化することが

FRAP 解析で示した。セントロメアにおける HP1 $\alpha$  と Aurora B の相互作用の意義をノックダウン実験あるいは種々の変異体の補完実験を行って検討したところ、この相互作用はメロテリック結合（一つの動原体に両極から延びた微小管が結合）という動原体における微小管の誤接続を防ぐという役割を担っていることを明らかにした。つまり、Aurora B は、HP1 $\alpha$  をセントロメアに引き込むことによって、微小管の誤接続を防ぎ、染色体の不均等分配を未然に防ぐことによって、染色体の安定した分配を保証していると言える。

### 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

分子のダイナミクスを測る技術基盤としては FRAP 技術を導入したことにより、本研究の中心的な課題であった分子動態を生細胞で解析するという目的を達成した。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) Aurora B の機能について、「染色体の構築」および「微小管と動原体の結合」という局面において検討する。研究方法は、これまで通り分子動態の制御を見ることに主眼を置いて進め、染色体や紡錘体の形成過程の“分子のメタボリズム”を調節する Aurora B の分子背景を明らかにし、作業仮説の検証をさらに進める。

(2) Polo-like kinase 1 (Plk1) の機能について、いかにして「染色体凝縮」に関与しているのを検討する。Plk1 とそのリン酸化基質は polo-box domain (PBD) を介して結合することが知られているので、PBD に結合するタンパク質から糸口を探る。

### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文] (計 14 件)

① Uchida, K.S.K., Takagaki, K., Kumada, K., Noda, T., and Hirota, T. (2009). Kinetochore stretching inactivates the spindle assembly checkpoint. *J. Cell Biol.* 184, 383-390.

② Tanaka, K., and Hirota, T. (2009). Chromosome segregation machinery and cancer. *Cancer Sci.* 100, 1158-1165.

③ Nakajima, M., Kumada, K., Hatakeyama, K., Noda, T., Peters, J.M., and Hirota, T. (2007). The complete removal of cohesin from chromosome arms depends on separase. *J. Cell Sci.* 120, 4188-4196.

[学会発表] (計 21 件)

④ Hirota, T. Kinetochore stretching: Is it sensed by the SAC? FASEB meeting. Mitosis: Spindle Assembly and Function. 2009.8.30-9.4 (Lucca, Italy)

⑤ Hirota, T. Kinetochore stretching promotes the metaphase-to-anaphase transition. The 61st Annual Meeting of the Japan Society for Cell Biology (JSCB), 2009.6.4. (Nagoya)

[図書] (計 2 件)

[その他]

ホームページ

<http://www.jfcr.or.jp/tci/exppathol/index.html>