

自己評価報告書

平成23年 4月22日現在

機関番号：14401

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20114002

研究課題名（和文）遺伝情報継承のメカニズム

研究課題名（英文）Functional Organization of the Genome

研究代表者

平岡 泰 (HIRAOKA YASUSHI)

大阪大学・大学院生命機能研究科・教授

研究者番号：10359078

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・分子生物学

キーワード：分子細胞生物学

1. 研究計画の概要

真核生物のゲノムは染色体として細胞核に収納され継承される。体細胞分裂と減数分裂では細胞核内の染色体の空間配置が大きく異なる。このことから、遺伝情報を制御するダイナミックな時空間場を着想するに至った。本研究の目的は、遺伝情報の正確な継承を保証する時空間場の特性を明らかにし、継承のメカニズムを分子レベルで理解することにある。主に分裂酵母や動物培養細胞を用い、分子遺伝学的手法と蛍光イメージングを併用して解析を進める。

2. 研究の進捗状況

[2008年度] まず、遺伝情報の継承に関わる蛋白質群および遺伝子群の検索を行った。そのために、分裂酵母の蛍光蛋白質ライブラリーを活用し、局在に基づいて細胞核の蛋白質を選出した (Hayashi et al., 2009, Genes to Cells)。このライブラリーは、染色体上の本来の遺伝子に直接 GFP 遺伝子を融合させてあるので、蛍光蛋白質が生理的な条件で発現する。さらに、遺伝情報継承に関わる遺伝子群を同定するために、DNA マイクロアレイで網羅的に検索を行い、候補遺伝子の絞り込みを行った。候補遺伝子を既存の蛍光蛋白質ライブラリーの局在データに参照し、遺伝子産物の局在を確認し、核膜および染色体タンパク質を選別した。また、ヒト培養細胞を用いた研究においては、蛍光顕微鏡による生細胞イメージングと電子顕微鏡による高分解能解析を組み合わせることにより、分裂期における細胞核再構築の過程を解析した (Haraguchi et al., 2008, J. Cell Sci.)。

[2009年度] 検索で得られた候補タンパク質について、分裂酵母において遺伝子破壊株を作成し、その遺伝子産物の機能を解析した。これらの遺伝子破壊株についてテロメアの局在を蛍光顕微鏡で解析し、その結果、テロメアを核膜につなぎとめるタンパク質群を同定した (Chikashige et al., 2009, J. Cell Biol.)。さらに、この結果に基づき、染色体の核内配置を決める普遍的な仕組みを提唱した (Hiraoka and Dernburg, 2009, Develop. Cell)。また、動物培養細胞を用いた研究においては、転写因子の細胞内局在制御による転写抑制の仕組みについて明らかにし、論文を発表した (Ogawa et al., 2009, Mol. Biol. Cell, 2009)。

[2010年度] 蛍光タンパク質の発現を、生きている酵母の個々の細胞で計測し、染色体上での遺伝子発現制御をイメージングすることに成功した (Osborne et al., 2011, Proc. Natl. Acad. Sci.)。酵母の細胞周期制御に関わるタンパク質として Wee1 を解析し、このタンパク質が紡錘極体 (spindle pole body) で働くことを明らかにした (Masuda et al., 2011, Mol. Biol. Cell)。また、染色体末端テロメアと核膜の相互作用について解析を行い、テロメアの核内配置と細胞機能の関係について新しい知見を得た (Chikashige et al., 2010, Nucleus; Chen et al., Nat. Struct. Mol. Biol.)。動物培養細胞を用いた研究においては、転写因子の細胞内局在制御による転写抑制の仕組みについての解析を進め、新しい制御タンパク質を発見した (Tsuchiya et al., 未発表)。さらに、染色体構造に影響を与える遺伝子群を

検索するために、染色体構造を蛍光顕微鏡で解析し、野生型と比べて凝縮率が異なる変異株をいくつか見いだした。このような細胞株で、クロマチン構造の解析を進めている。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

私たちは、分裂酵母を用いた研究から、体細胞分裂から減数分裂に移行すると、染色体配置が核内で劇的に変化することを発見し、その分子メカニズムとして核膜のタンパク質複合体が核内外を中継し、テロメアを細胞質のモーター蛋白質に連結することを世界に先駆けて発見した。この発見によって、細胞質のモーター蛋白質が核膜を隔てて染色体の動きを制御できることを分子レベルで示すことができた。最近になって、酵母やマウスでも、同様の仕組みが働くことが示され、私たちの先駆的な発見が普遍化された。

4. 今後の研究の推進方策

これまでの研究によって、体細胞分裂期にテロメアを核膜につなぎ止める仕組みが見つかった。今後は、細胞核の染色体配置を解析するために、染色体と核膜の相互作用、染色体間の相互作用を重視し、引き続き分子遺伝学による機能解析を行うとともに、これらの相互作用に関係する蛋白質複合体の構成成分をプロテオミクス解析し、特に重要な複合体については、結晶解析により、構造を明らかにする。

これまでの研究で生じた問題点としては、蛍光顕微鏡の分解能では結論できない事例があげられる。蛍光顕微鏡は生きたまま細胞を観察できる反面、分解能が低い。この問題を解決するために、蛍光顕微鏡による生細胞イメージングと電子顕微鏡による高分解能イメージングを同一の細胞に対して行う手法を確立した。これにより、双方の利点を組み合わせることを可能にした。この手法を今後も活用していく。

5. 代表的な研究成果

(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 33 件)

1. Y. Chen 他 14 名 (10 番目) (2011) A conserved motif within RAP1 has diversified roles in telomere protection and regulation in different organisms. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 18, 213-221 査読有
2. H. Masuda, C.S. Fong, C. Ohtsuki, T. Haraguchi, Y. Hiraoka (2011)

Spatio-temporal regulations of Wee1 at the G2-M transition. *Mol. Biol. Cell*, 22, 555-569. 査読有

3. E.A. Osborne, Y. Hiraoka, J. Rine (2011) Symmetry, asymmetry, and kinetics of silencing establishment in *Saccharomyces cerevisiae* revealed by single-cell optical assays. *Proc Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 1209-1216. 査読有
4. Y. Chikashige, T. Haraguchi, Y. Hiraoka (2010) Nuclear envelope attachment is not necessary for telomere function in fission yeast. *Nucleus*, 1, 481-486. 査読有
5. H. Ogawa, T. Komatsu, Y. Hiraoka, and K. Morohashi (2009) Transcriptional Suppression by Transient Recruitment of ARIP4 to Sumoylated Nuclear Receptor Ad4BP/SF-1. *Mol. Biol. Cell* 20, 4235-4245. 査読有
6. Y. Chikashige, M. Yamane, K. Okamasa, C. Tsutsumi, T. Kojidani, M. Sato, T. Haraguchi, Y. Hiraoka (2009) Membrane proteins Bqt3 and -4 anchor telomeres to the nuclear envelope to ensure chromosomal bouquet formation. *J. Cell Biol.* 187, 413-427. 査読有
7. Y. Hiraoka and A. Dernburg (2009) The SUN rises on meiotic chromosome dynamics. *Developmental Cell* 17, 598-605. 査読有
8. A. Hayashi, D.-Q. Ding, C. Tsutsumi, Y. Chikashige, H. Masuda, T. Haraguchi, Y. Hiraoka (2009) Localization of gene products using a chromosomally-tagged GFP-fusion library in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*. *Genes Cells* 14, 217-225. 査読有
9. T. Haraguchi, T. Kojidani, T. Koujin, T. Shimi, H. Osakada, C. Mori, A. Yamamoto, and Y. Hiraoka (2008) Live cell imaging and electron microscopy reveal dynamic processes of BAF-directed nuclear envelope assembly. *J. Cell Sci.* 121, 2540-2554. 査読有

[学会発表] (計 140 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

1. 名称: Vrk1 蛋白質抗体とその製造方法、抗原、検知方法
発明者: 原口徳子、荒神尚子、平岡泰
権利者: (独)情報通信研究機構
種類: 特許権
番号: 特願 2009-155028
出願年月日: 2009 年 6 月 30 日
国内外の別: 国内