

令和元年6月25日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15064

研究課題名(和文) 不妊原因因子SYP-1/SYCPが減数分裂の染色体分配を保障する分子メカニズム

研究課題名(英文) Understanding molecular mechanisms by which SYP-1/SYCP ensures meiotic chromosome segregation

研究代表者

佐藤 綾 (Sato, Aya)

京都大学・生命科学研究科・特定研究員

研究者番号：40595112

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：正常な精子、卵子形成には、減数分裂において、正しく染色体を分離することが必須である。減数第一、第二分裂は、染色体をつなぐコヒーシン分子を、異なる染色体領域で二段階に分けて切断することで実現される。我々はヒトまで保存された不妊因子SYCPの線虫ホモログであるSYP-1タンパク質が、このコヒーシン分子を分解する染色体領域を決定するカスケードの上流で働くことを明らかにした。特にリン酸化されたSYP-1の挙動が交叉形成後にダイナミックに変化することで、減数第一分裂における染色体分離面を決める因子を、染色体の特定領域に誘導する分子カスケードを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

正常な精子、卵子形成には、減数分裂において、正しく染色体を分離することが必須である。本研究は、ヒトにおいて不妊原因因子として同定されているSYCPタンパク質の、線虫ホモログであるSYP-1タンパク質が減数分裂に果たす役割を解析した。この研究より、SYP-1/SYCPタンパク質が減数分裂前期にリン酸化を受けること、そのリン酸化が、シナプトネマ複合体と呼ばれる減数分裂期の相同染色体を架橋するタンパク質重合体のタイムリーな重合に重要であること、そして、減数第一分裂における染色体の分離面を決定するのに重要であることを示した。この研究より、ヒトまで保存された減数分裂因子の機能の一部が明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Correct segregation of chromosomes at meiosis is essential for sperm and oocyte production. Meiosis I and II divisions are executed by degrading cohesin molecules, connecting chromatids, at the different chromosome domains in two steps. We found that *C. elegans* syp-1, a homolog of mammalian infertility gene Sycp, is involved in the molecular cascade determining the chromosome segregation domain at meiosis I and II divisions. More specifically, we found that SYP-1 gets phosphorylation, and phosphorylated SYP-1 dynamically changes its localization along the chromosomal axis to recruit downstream factors dictating chromosome separation at meiosis I.

研究分野：細胞生物学

キーワード：減数分裂 染色体 シナプトネマ複合体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

正常な精子、卵子形成には、減数分裂において、正しく染色体を分離することが必須である。減数第一、第二分裂は、染色体をつなぐコヒーシ分子を、異なる染色体領域で二段階に分けて切断することで実現される。この時、染色体上の特定領域においてコヒーシを段階的に切断する分子を局在させ、正確に染色体を切り離すメカニズムには、未解明の部分が多い。減数分裂前期、父方と母方由来の相同染色体は、相同組換えを起こし交叉を作る。線虫染色体では、交叉を始点として、短い方の染色体領域を「短腕」、交叉より遠い染色体末端までを「長腕」として、第一分裂で短腕のコヒーシを切り離し、第二分裂で長腕のコヒーシを切り離す(上図)。第一分裂直前、染色体短腕にのみ Aurora B キナーゼが局在し、Aurora B によるコヒーシのリン酸化が、短腕特異的なコヒーシ切断を誘導することが知られている(Rogers, JCB, 2002)。しかしながら、交叉は、染色体ごとに任意の位置に形成されるため、どのように染色体が、毎回短腕と長腕の染色体領域を見分けて、短腕にのみ コヒーシ切断に必要な Aurora B を局在させるのか? という謎は未解明のままである。本研究は、この、減数分裂における染色体切り離しの分子メカニズムを明らかにすることを目指した。

マウス卵母細胞において多くの減数分裂因子がリン酸化されることが報告されたが、そのリン酸化の機能の未知の部分が多い。申請者は、線虫を用いた網羅的リン酸化プロテオーム解析を行い、複数のシナプトネマ複合体因子がリン酸化修飾を受けることを発見していた。本研究では、これらシナプトネマ複合体因子のリン酸化修飾が、減数分裂における段階的コヒーシ分解及び、Aurora B キナーゼの誘導において果たす機能を解析した。

## 2. 研究の目的

線虫における網羅的リン酸化プロテオーム解析から発見した、シナプトネマ複合体因子 SYP-1 (哺乳類の SYCP1 ホモログ)などの因子が減数分裂において果たす機能を明らかにすることを目的とした。また、当初の計画では、SYP-1 をリン酸化する上流キナーゼを同定することを目的の一つとしていたが、他の研究室により上流キナーゼが同定されたとの情報を得たため、当初の計画を一部変更し、SYP-1 のシナプトネマ複合体におけるダイナミクスを生細胞で計測することを新たな目的として加えた。

## 3. 研究の方法

申請者は、線虫を用いた網羅的リン酸化プロテオーム解析を行い、ヒト不妊因子 SYCP の線虫ホモログ SYP-1 が、425 番目スレオニン(Thr452)においてリン酸化修飾を受けることを発見していた。この情報をもとに、SYP-1 の非リン酸化型変異株を Mos-SCI 法を用いて作製し、その表現型解析を行った。また、SYP-1 の下流と考えられる減数分裂因子の局在を、免疫染色を用いて行った。加えて、リン酸化型 SYP-1T452 に対するリン酸化特異的抗体を作製し、この局在解析を行った他、SYP-1 の非リン酸化型変異株におけるシナプトネマ複合体のダイナミクスを定量するため、生細胞における FRAP(fluorescence recovery after photobleaching)も試みた。

## 4. 研究成果

まず SYP-1 リン酸化は、減数分裂前期における染色体の非対称性確立に機能することで、染色

体分離、そして正常な生殖細胞の産出に貢献することを示し、これを JCB 誌に発表した。具体的には、以下を明らかにした。まず、SYP-1 の 452 番目の Threonine がリン酸化されると、そこに Polo kinase (PLK-2) が結合することができ、Polo kinase がシナプトネマ複合体上に誘導されてくる。この時、リン酸型 SYP-1 は、交叉からみて短い方の染色体腕、すなわち短腕に局在が集中する (図 1)。短腕に局在したリン酸型 SYP-1 により、Polo kinase が短腕に局在集中することが、その下流因子である CPC(chromosome passenger complex) 因子 ICP-1, Aurora B kinase の短腕局在につながり、最終的には Aurora B においてコヒーシスが短腕においてリン酸化されることで、減数第一分裂における短腕における染色体切り離しが促進されることを明らかにした。

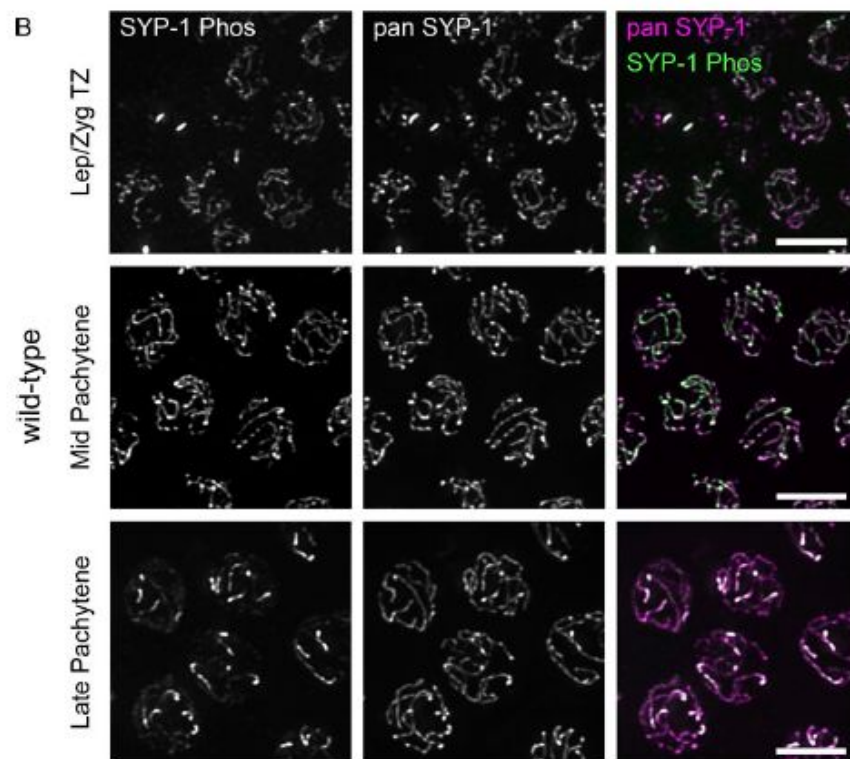
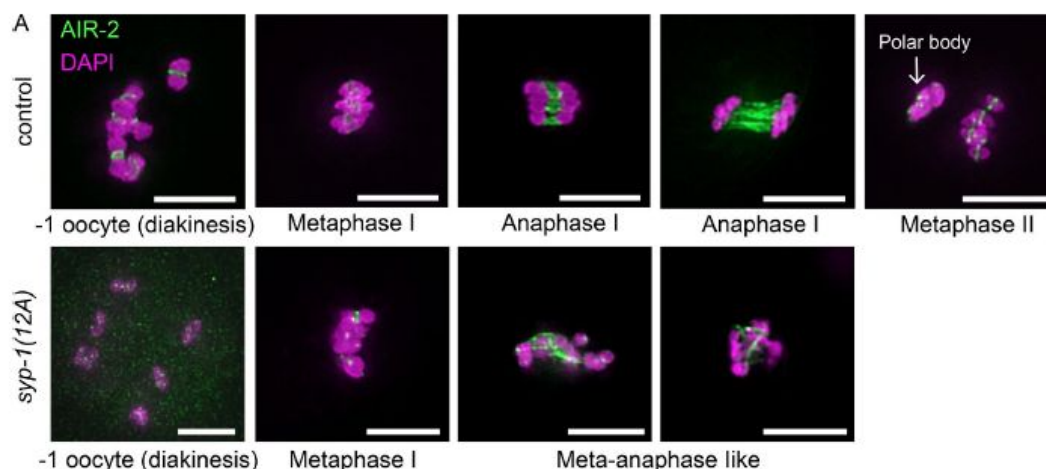


図 1

非リン酸型の *syp-1* 変異株 (*syp-1(T452)* or *(12A)*) では、Aurora B kinase (AIR-2 in *C. elegans*) が短腕に局在することができず、コヒーシスをリン酸化できないため、減数第一分裂における染色体切り離しに不具合が見られ (図 2)、anaphase chromosomal bridge が見られることを示した。

図 2



減数第一分裂における染色体切り離し面（短腕）を指定するのに加えて、我々は、SYP-1 のリン酸化が、SYP-1 のシナプトネマ複合体重合そのものにも重要であることを示した。非リン酸化型 *syp-1* の変異株では、SYP-1 を含むシナプトネマ複合体の中央因子の重合が遅く、synapsis checkpoint が活性化されるために、meiotic prophase の進行が遅延することも示した。しかしながら、最終的にはほぼ全ての染色体においてシナプトネマ複合体の中央因子が重合するため、SYP-1 のリン酸化は、シナプトネマ複合体の重合に貢献するが、必須ではないと考えられる。

次に、リン酸化型 SYP-1 抗体を用いた免疫染色の定量化より、SYP-1 が減数分裂前期に、二段階でリン酸化されることを明らかにした。具体的には、SYP-1 はタンパク質が発現する減数分裂の開始期にすでに一部がリン酸化されているが、減数分裂前期が進行するに従って、交叉が作られ、Late pachytene 期に細胞周期が入ると、そこで再度リン酸化されることがわかった。交叉が作られない変異株においてリン酸化型 SYP-1 の抗体染色を行うと、Late pachytene 期、それ以降において SYP-1 リン酸化型のシグナルが有意に弱くなることから、交叉依存的に、なんらかのキナーゼが SYP-1 を新たにリン酸化していることが示唆された。

また、非リン酸化型 SYP-1 タンパク質にタグをつけて、その局在をリン酸化型 SYP-1 と比較したところ、交叉形成後に、リン酸化型 SYP-1 が短腕に集積し、長腕からは解離する際、非リン酸化型の SYP-1 は、特に局在を変化させない（特に長腕に集積するわけでもなく、また短腕から解離するわけでもなく）ことがわかった。これより、交叉形成後に短腕へ正味の移動をするのはリン酸化型 SYP-1 であることがわかった。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

“Phosphorylation of the synaptonemal complex protein SYP-1 promotes meiotic chromosome segregation”

Aya Sato-Carlton, Chihiro Nakamura-Tabuchi, Stephane Kazuki Chartrand, Tomoki Uchino, and Peter Mark Carlton *J. Cell Biol.* (2018) <https://doi.org/10.1083/jcb.201707161>

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.carltonlab.org/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。