

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 4月12日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21570193

研究課題名（和文） 染色体安定性システムを構成する分子ネットワークの解明

研究課題名（英文） Molecular network supporting chromosomal stability

研究代表者

田中 耕三 (TANAKA KOZO)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：00304452

研究成果の概要（和文）：本研究では、染色体の安定な維持に関与する分子の探索を行い、新規分子 CAMP (chromosome alignment-maintaining phosphoprotein; C13orf8, ZNF828) を同定した。CAMP はキネトコアと微小管の結合を維持することにより染色体分配に寄与するものと考えられた。また CAMP の変異とがん化との関連が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We searched for molecules involved in chromosomal stability, and identified a novel molecule, CAMP (chromosome alignment-maintaining phosphoprotein; C13orf8, ZNF828). CAMP is supposed to contribute to chromosome segregation through the maintenance of kinetochore-microtubule attachment. Mutations in CAMP were suggested to be related to oncogenesis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

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：細胞周期

1. 研究開始当初の背景

細胞分裂に際して、染色体は複製されて倍加した後、2つの娘細胞に分配される。染色体の分配は、複製された染色体上のキネトコアが微小管に結合し、微小管によって別々の娘細胞に引っ張られることによって起こる。細胞は正確な染色体分配のための様々な機構を備えており、それらを総合してここでは染色体安定性システムと呼ぶ。このシステムの異常は染色体不安定性をひきおこし、細胞死やがん化に至ると考えられるが、その全貌は解明されていない。そこで既知の染色体安定性システム分子と結合する分子の同定お

よび機能解析を通じて、染色体安定性システムの分子ネットワークを解明するという着想に至った。

2. 研究の目的

本研究は、染色体を安定に維持する機構（染色体安定性システム）を、その分子ネットワークを明らかにすることにより解明することを目的とする。この目的のために、プロテオミクスによる新規染色体安定性システム分子の同定と、生細胞観察を中心とした機能解析を行う。本研究の成果は、遺伝情報伝達システムの理解に重要であると共に、が

ん化機構の解明につながると考えられる。

3. 研究の方法

(1) 染色体安定性システムに関する既知分子に対する新規結合分子のスクリーニング

既知の染色体安定性システム分子に対する免疫沈降産物中に含まれる分子をマスペクトロメトリーにより同定する。

(2) 新規染色体安定性システム分子の作用機構の検討

同定された新規分子について、その局在やノックダウンした場合の染色体分配の異常について検討する。また染色体分配に関する機能に重要な領域を決定し、リン酸化等による制御機構について解析する。

(3) 新規染色体安定性システム分子の異常とがん化との関連性の検討

がん症例における新規染色体安定性システム分子の変異を検索し、この変異が染色体不安定性と関連するかどうかを検討する。

4. 研究成果

(1) C13orf8 の同定

酵母の紡錘体チェックポイント分子 MAD2 のヒトホモログの1つである MAD2L2 と結合する分子として新規分子 C13orf8 を同定した。C13orf8 は Znフィンガー領域および我々が WK モチーフ、SPE モチーフ、FPE モチーフと名付けた特徴的な繰り返し配列を有する 812 アミノ酸のタンパク質で、脊椎動物にのみ保存されていることがわかった (図 1)。

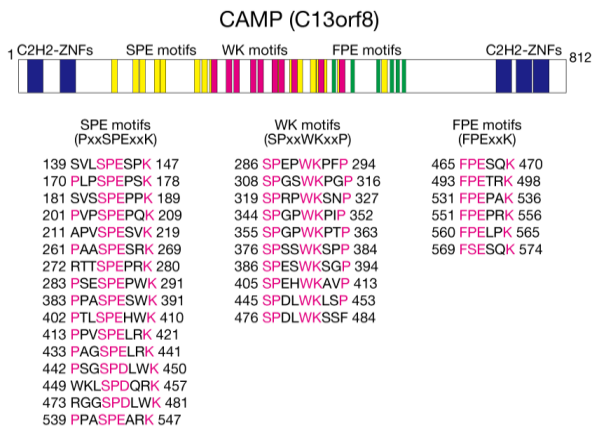


図1 CAMPの構造
数字はアミノ酸の番号を示す。

(2) C13orf8 の染色体分配に関する機能

C13orf8 は染色体およびスピンドル上に存在し、C 端側の領域が染色体とスピンドルへの局在に関与する一方、FPE モチーフを含む領域はキネトコアを含むスピンドルに局在することがわかった (図 2)。C13orf8 をノックダウンした細胞では染色体の赤道面

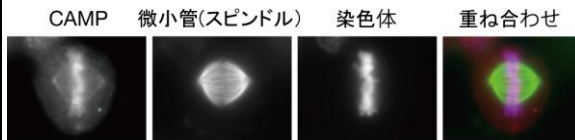


図2 CAMPの細胞内局在

への整列の異常が認められ (図 3)、これは姉妹キネトコア間に張力が生じた際にキネトコア-微小管結合を維持できないためであることが示唆された。キネトコア-微小管結合の維持には FPE モチーフを含む領域が関与しており、これに対して C 端側の領域は抑制的に働くことが予想された。また C13orf8 は細胞分裂期に CDK1 依存性にリン酸化され、FPE 領域のリン酸化が C 端側の領域による抑制を解除するというモデルが考えられた。これらの結果より、C13orf8 はキネトコア-微小管結合の維持に関与する分子であることが明らかになり、我々は C13orf8 を CAMP (Chromosome alignment-maintaining phosphoprotein) と命名して発表した (*EMBO J*, 2011)。

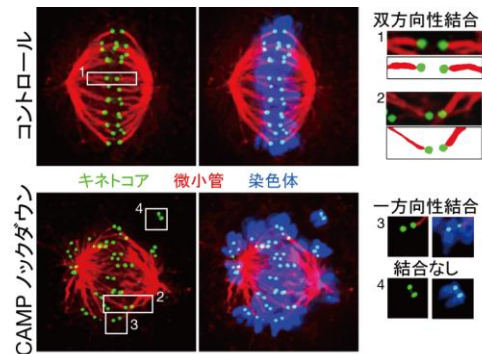


図3 CAMPノックダウン細胞でのキネトコア-微小管結合の異常
CAMP ノックダウン細胞ではキネトコア-微小管結合の異常 (2~4) のため、染色体が赤道面に整列しない (*EMBO J*, 2011)。

(3) CAMP の異常とがん化との関連性の検討

がん症例における CAMP の変異を検索したところ、データベース上で卵巣がんにおいて FPE 領域のミスセンス変異が認められた。このような変異を含む CAMP を HeLa 細胞に発現させたところ、染色体分配の異常が認められたことから、CAMP の変異ががんにおける染色体不安定性と関連している可能性が示唆された。

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 8 件)

1. Gandhi, S, R, Gierlinski, M, Mino, A, Tanaka, K, Kitamura, E, Clayton, L, and Tanaka, T, U. Kinetochores-dependent microtubule rescue ensures their efficient and sustained

- interactions in early mitosis. *Dev Cell* (2011) 21, p920-933. 査読あり.
2. †Kawashima, S, †Nakabayashi, Y (†equally contributors), Matsubara, K, Sano, N, Enomoto, T, *Tanaka, K, *Seki, M, and *Horikoshi, M (*joint corresponding authors). Global analysis of core histones reveals nucleosomal surfaces required for chromosome bi-orientation. *EMBO J* (2011) 30, p3353-3367. 査読あり.
 3. Itoh, G, Kanno, S, Uchida, K, S, K, Chiba, S, Sugino, S, Watanabe, K, Mizuno, K, Yasui, A, Hirota, T, and Tanaka, K. CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator of kinetochore-microtubule attachment. *EMBO J* (2011) 30, p130-144. 査読あり.
 4. 田中耕三. キネトコアと微小管の結合を制御するタンパク質 CAMP. 生体の科学 (2011) 62, p468-469. 査読なし.
 5. Endo, K, Mizuguchi, M, Harata, A, Itoh, G, and Tanaka, K. Nocodazole induces mitotic cell death with apoptotic-like features in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett* (2010) 584, p2387-2392. 査読あり.
 6. †Kitamura, E, †Tanaka, K, †Komoto, S (†equally contributors), Kitamura, Y, Antony, C, and Tanaka, T, U. Kinetochores generate microtubules with distal plus ends: their roles and limited lifetime in mitosis. *Dev Cell* (2010) 18, p248-259. 査読あり.
 7. Tanaka, K, Kitamura, E, and Tanaka, T, U. Live cell analysis of kinetochore-microtubules interaction in budding yeast. *Methods* (2010) 51, p206-213. 査読なし.
 8. Tanaka, K, and Tanaka, T, U. Live cell imaging of kinetochore capture by microtubules in budding yeast. *Methods Mol Biol* (2009) 545, p233-242. 査読なし.

[学会発表] (計 15 件)

1. 伊藤剛, 菅野新一郎, 内田和彦, 千葉秀平, 水野健作, 安井明, 広田亨, 田中耕三. 新規分子 CAMP のキネトコア-微小管結合に関する機能. 第 29 回染色体ワークショップ, 2012.1.25, 仙台.
2. 伊藤剛, 菅野新一郎, 内田和彦, 千葉秀平, 水野健作, 安井明, 広田亨, 田中耕三. Function of CAMP (C13orf8, ZNF828) in kinetochore-microtubule attachment. 第 34 回日本分子生物学会年会, 2011.12.16, 横浜.
3. 田中耕三. タキサン系抗がん剤の作用機序について. 第 17 回北日本肺癌臨床研究会, 2011.11.12, 仙台.
4. 田中耕三. 新規分子 CAMP によるキネト

- コア-微小管結合の制御. 第 16 回東北大学学際ライフサイエンスシンポジウム, 2011.11.1, 東北大学.
5. 伊藤 剛, 田中耕三. 染色体整列に働く新規分子 CAMP の機能について. 日本生化学会東北支部第 77 回シンポジウム, 2011.7.23, 東北大学.
 6. 田中耕三. Maintenance of kinetochore-microtubule attachment by a novel protein, CAMP (C13orf8). 特定領域研究「細胞周期フロンティア-増殖と分化相関」公開国際シンポジウム “Cell Division”, 2011.6.29, 箱根.
 7. 田中耕三. Mechanisms of mitotic regulation in relation to oncogenesis and anti-cancer therapy. 第 6 回研究所ネットワーク国際シンポジウム, 2011.6.9, 東京医科歯科大学.
 8. 田中耕三. CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator or kinetochore-microtubule attachment. 6th UK-Japan Cell Cycle Workshop, 2011.4.13, Windermere, UK.
 9. 伊藤剛, 菅野新一郎, 内田和彦, 千葉秀平, 水野健作, 安井明, 広田亨, 田中耕三. 新規分子 CAMP(C13orf8, ZNF828)によるキネトコア-微小管結合の制御. 第 28 回染色体ワークショップ, 2011.1.11, 加賀.
 10. 伊藤剛, 菅野新一郎, 内田和彦, 千葉秀平, 水野健作, 安井明, 広田亨, 田中耕三. CAMP (C13orf8, ZNF828) is a novel regulator of kinetochore-microtubule attachment. 第 33 回日本分子生物学会年会・第 83 回日本生化学会大会合同大会, 2010.10.22, 神戸.
 11. 田中耕三. 新規分子 CAMP によるキネトコア-微小管結合の制御. 平成 22 年度遺伝研研究会, 2010.9.22, 三島.
 12. 田中耕三, 伊藤剛, 安井明, 広田亨. A novel MAD2L2-interacting protein, CAMP, is a regulator of kinetochore-microtubule attachment. 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010.9.22, 大阪.
 13. 伊藤剛, 菅野新一郎, 内田和彦, 千葉秀平, 水野健作, 安井明, 広田亨, 田中耕三. 新規 MAD2L2 結合分子 CAMP (C13orf8, ZNF828)によるキネトコア-微小管結合の制御. 第 9 回核ダイナミクス研究会, 2010.5.28, 伊豆.
 14. 伊藤 剛, 菅野新一郎, 安井明, 広田亨, 田中耕三. MAD2L2 と結合する新規分子 C13orf8 によるキネトコア-微小管結合の制御. 第 27 回染色体ワークショップ, 2010.1.20, 御殿場.
 15. 伊藤 剛, 菅野新一郎, 安井明, 広田亨, 田中耕三. 新規 MAD2 結合分子 MAD2BP1

によるキネトコア-微小管結合の制御. 第
32 回日本分子生物学会年会. 2009.12.10,
横浜

[その他]

ホームページ等

http://www.idac.tohoku.ac.jp/ja/activities/research/molecular_oncology/index.html

<http://www2.idac.tohoku.ac.jp/dep/molonc/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 耕三 (TANAKA KOZO)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：00304452

(2) 研究分担者

安井 明 (YASUI AKIRA)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：60191110

(3) 研究協力者

伊藤 剛 (ITO GO)

東北大学・加齢医学研究所・助教

研究者番号：60607563

菅野 新一郎 (KANNO SHINICHIRO)

東北大学・加齢医学研究所・講師

研究者番号：10400417

田中 智之 (TANAKA TOMOYUKI)

英国ダンディー大学・生命科学科・教授

研究者番号：50227154