

[研究課題名] 分裂期染色体動態を制御する新たな分子機構

[研究課題名(英文)] Analysis of a novel mechanism regulating the behavior of mitotic chromosomes

[研究担当者] 高木昌俊 田原清志 今本尚子

[研究室] 今本細胞核機能研究室

1. 研究目的

細胞分裂期において遺伝情報を姉妹細胞に均等分配することは、細胞が自らを維持するために、また組織や個体などのより高次な構造を破綻なく構築するために必須である。分裂期において染色体が適切に挙動するには、染色体が凝縮し十分に強靱かつコンパクトな構造をとること、双極性の分裂装置が形成されること、モータータンパク質群・微小管結合タンパク質(MAP)群・種々のキナーゼなどが適切な場所と強さで関係して機能することなどが重要であり、夫々の過程で機能する分子がこれまでに多数報告されている。我々は分裂期染色体の表層領域に局在するタンパク質(クマドリ)を有袋類細胞及びアフリカツメガエル卵から同定し、クマドリもまた分裂期染色体の適切な動態(特に中期赤道面への整列)に寄与する分子であることを示した。クマドリは、分裂期染色体の表層領域というこれまでに具体的な役割が示唆されてこなかった領域に局在して機能することから、未知の機構により分裂期染色体動態を制御していると予想された。そこで本課題においては、クマドリが機能発現するための分子基盤の解析を目的とし、分裂期染色体動態を制御する未知の機構の発見を目指す。

2. 平成19年度の研究計画

前年度までの研究により、カエルクマドリがRNA分子を含む巨大なRNP(ribonucleoprotein)複合体を形成すること、同複合体が幾つかのRNA結合性タンパク質やある種の脱ユビキチン化酵素(USP Xと呼ぶ)を構成成分として持つことを示した。また幾つかの構成成分について、そのヒトホモログをRNA干渉法により培養細胞から除去すると(クマドリ除去細胞の場合と同様に)中期染色体の整列が乱れることも示し、クマドリが分子複合体として染色体動態を制御していることを強く示唆した。クマドリ複合体が染色体動態を制御する分子機構を明らかにするには、同複合体の下流で機能する(または下流で制御を受ける)分子を同定することが肝要であり、この点について前年度に引き続き検討する。また「分裂期後期へ進行した際にクマドリ複合体の染色体上での運動性が著しく減少する」という生細胞観察

について、その分子的基盤を探る。細胞膜の透過性を人工的に高めたセミインタクト分裂期細胞を利用した解析系を樹立し、「染色体分離が成された時に染色体（及び染色体の周辺領域）の性状にどのような変化が生じるのか」という問題に迫る第一歩としたい。

3. 平成 19 年度の研究成果

クマドリン複合体の機能発現様式を明らかにするために、複合体を構成する酵素群の生理的基質を同定することは肝要である。USP X については、活性を保持した組替えタンパク質及び特異的抗体の調製に成功し、生理的基質探索のためのツールとした。生理的基質であることが確実な分子を突き止めるに至っておらず、更なる探索と解析が必要である。一方クマドリン複合体を構成する RNA 結合性タンパク質群に関して、個々の因子を RNA 干渉法により細胞から除去して分裂期進行に与えるインパクトを比較したところ、mRNA の代謝（分解、貯蔵および翻訳制御）に関わる因子の除去により種々の分裂期進行異常が誘起されることが分かった。クマドリン除去により観察されていた中期染色体整列異常だけでなく、分裂期チェックポイント機構の破綻を示唆する異常も観察された。同じ分子を（内在性の分子に較べて）僅かに過剰発現する細胞株を樹立して生細胞観察したところ、分裂後期において分離しつつある姉妹染色体間に chromosome bridge が頻出し、染色体の高次構造が破綻している可能性が示唆された。以上の観察を総合すると、クマドリン複合体が「構成成分の一つである RNA 結合性タンパク質の機能を介して分裂期における mRNA 代謝を制御し、それにより分裂期進行の多様な局面に寄与している可能性」が予想された。実際に分裂期細胞から注目する RNA 結合性タンパク質を除去することにより、特徴的な増加または減少を示す mRNA を既に見いだしており、これらの中には増殖細胞において細胞周期進行に伴い周期的かつシャープに増減するものや、分裂期染色体動態制御における機能が明らかに示されているものが含まれていた。これらの mRNA（または mRNA に由来するタンパク質）について、クマドリン複合体の機能発現において重要な下流因子である可能性を鋭意検討中である。以上の取組みと並行して、分裂期染色体とクマドリン複合体との相互作用様式が分裂後期の開始と同時に著しく変化する（染色体上での運動性が著しく低下する）現象について、その分子的基盤を探る目的で、セミインタクト分裂期細胞を利用した解析系を樹立した。今年度は、私達が数年来解析してきた DNA 結合性キネシン様モータータンパク質である hKid をモデル分子として実験系を研ぎ澄まし、「hKid が Importin β および低分子量タンパク質 Ran に依存した新しい様式により分裂

期染色体へ機能的にローディングされること」を新たに示した。

4. 目的と成果の要約 100-200

分裂期染色体を包み込むように局在するタンパク質（クマドリ）の解析を端緒に、分裂期染色体動態を制御する未知の機構を明らかにすることを目的とする。今年度までの研究で、クマドリ複合体が特定の mRNA 分子の分裂期細胞における代謝を制御することを介して分裂期染色体の動態制御に与るという新しい可能性を示した。

5. 研究成果の概要（英文）

We showed a novel possibility that chmadrin complex might contribute to the behavior of mitotic chromosomes via regulating the metabolism of certain specific mRNAs.

6. 平成 19 年度誌上発表（英文のみ）

(1) 原著論文

Tahara, K., Takagi, M., Ohsugi, M., Sone, T., Nishiumi, F., Maeshima, K., Horiuchi, Y., Tokai-Nishizumi, N., Imamoto, F., Yamamoto, T., Kose, S., and Imamoto, N. (2008) Importin- β and the small guanosine triphosphatase Ran mediate chromosome loading of the human chromokinesin Kid. *J. Cell Biol.* **180**: 493-506

7. メンバー（日本語および英語で）（理研以外の方は所属機関の正式呼称を日本語と英語で書いてください）

高木昌俊 Masatoshi TAKAGI

田原清志 Kiyoshi TAHARA

今本尚子 Naoko IMAMOTO

8. 共同研究者（同上）（理研のデータベース登録に必要なので、誌上発表のみならず、口頭発表でも名前を連ねている人をリストしてください）

高木昌俊 Masatoshi TAKAGI

田原清志 Kiyoshi TAHARA

大杉美穂 Miho Ohsugi

曾根岳史 Takefumi Sone

今本文男 Fumio Imamoto

山本雅 Tadashi Yamamoto

小瀬真吾 Shingo Kose

今本尚子 Naoko IMAMOTO

Isabelle VERNOS (Centre de Regulació Genòmica)