

論文内容の要旨

論文題目 シュゴシンは Aurora B のセントロメア局在を促進することにより

二極性動原体接着を可能にする

Shugoshin enables bi-polar attachment of kinetochores

by loading Aurora B to centromeres

氏名 川島 茂裕

増殖分裂を行う細胞が遺伝情報を正確に継承するためには、DNA複製期において複製された染色体を娘細胞に均等に分配する必要がある。そのためには、分裂装置であるスピンドル（紡錘体）が染色体のペア（姉妹染色分体）を反対方向から捉え（二極性動原体接着）、姉妹染色分体を細胞の両極に分けることが必須である。この均等分配を保証するために、「姉妹染色分体間の接着」および「スピンドルチェックポイント（以下 SAC:Spindle Assembly Checkpoint）」が重要な役割を果たしている。姉妹染色分体間の接着はコヒーシン複合体に依存して、DNA複製期に確立し、分裂中期まで維持される。分裂中期において二極性動原体接着が安定化されるには、スピンドルに十分な張力がかかる必要があり、この張力を生み出すためには姉妹染色分体間の接着が重要な役割を果たす。コヒーシンが染色体の接着を行う分子機構としては、コヒーシン複合体がリング状の構造をとり、姉妹染色分体を抱えているモデルが提唱されている。分裂後期になると、APC/C(Anaphase Promoting Complex/Cyclosome)が活性化することにより、セキュリンが分解され、活性化したセパレーンによってコヒーシンが切断され、姉妹染色分体間の接着が解除し、姉妹染色分体は微小管によって両極へ牽引される。一方で、細胞は、二極性動原体接着が確立するまで分裂後期への移行を防ぐために SAC という細胞周期のチェック機構をもつ。すなわち、スピンドルが形成される分裂前期から分裂前中期にかけて、動原体と微小管の間に間違った結合が頻繁に生じるが、このとき、Mad1, Mad2, Mad3, Bub1, Bub3, Mps1 を含めた一連の保存されたタン

パク質ネットワークが APC/C の機能を抑制することにより、分裂後期への移行を阻害する。このような SAC が活性化される条件としては、動原体と微小管の「結合」が存在しない状態（分裂前期）、および、「結合」は存在するが十分な「張力」が存在しない状態（syntelic 結合や merotelic 結合、図 1 参照）、の二つに分類することができる。Mad2 などの SAC 因子は、微小管との「結合」のない動原体に集積し、活性化することが知られているため、「結合」がない状態を感知しているといえるだろう。「張力」がないときの SAC の活性化機構については、次に述べるように Aurora B 複合体の分子機能が密接に関わっている。

Aurora B 複合体は Aurora B キナーゼおよびその結合分子である INCENP と Survivin(ヒトではさらに Dasra/Borealin が加わる)から構成されており、その挙動から Chromosome Passenger Complex(CPC)と呼ばれている。ヒトの分裂期の細胞では、CPC は染色体全体（分裂前期）、セントロメア（分裂前中期から中期）、セントラルスピンドル（分裂後期）、スピンドルミッドボディー（分裂終期）、と局在を変化させていき、各局在部位において特異的な分子機能を果たしていると考えられている。これまでに、Aurora B キナーゼは、出芽酵母、分裂酵母、ヒト培養細胞において、syntelic 結合や merotelic 結合のような間違っただ結合の修正、および「張力」が存在しないときの SAC の活性化、という一見異なる二つの機構に必要であることが示されてきた。しかし最近、「張力」がないとき SAC が活性化される機構について、これらの知見を統合したモデルが提唱されている（図 1）。すなわち、「張力」が発生しない syntelic 結合や merotelic 結合の動原体に Aurora B が集積し、間違っただ結合を解除する結果、「結合」がなくなった動原体に Mad2 などの SAC 因子が集積し、活性化されるというものである。一方、出芽酵母において、Aurora B 複合体中の Survivin および INCENP が動原体と微小管の橋渡しをしていることが示され、Aurora B 複合体が「張力」がないことを直接感知している可能性も示唆されている。今後、Aurora B による複雑な制御機構を詳細に理解するためには、各ステップにおける Aurora B のリン酸化の基質を同定することが必要であると考えられる。

シュゴシンは真核生物において広く保存された動原体タンパク質である。出芽酵母やハエは 1 種類のシュゴシン Sgo1 しか持たないのに対し、分裂酵母、マウス、ヒトは 2 種類のシュゴシンパラログ Sgo1 と Sgo2 を持つ。進化の系統樹から考えると、これらの 2 つのシュゴシンは種の分岐が起きた後に遺伝子重複により生じたと考えるのが妥当であろう。実際に Sgo1 と Sgo2 は生物種間でその機能分担が保存されていない。分裂酵母の Sgo1 と Sgo2 はいずれも、コヒーシン複合体が濃縮し、姉妹染色分体間の接着に重要な領域であるセントロメアの外側領域（高度に凝縮した構造をとっていることからヘテロクロマチン領域とも呼ばれる）に局在するが、一方で、その発現時期において明確な相違がみられる。Sgo1 は減数第一分裂特異的な発現であるのに対し、Sgo2 は体細胞分裂、減数第一分裂および第二分裂いずれの時期においても発現している。また、両者はその分子機能においても、大きな違いがみられる。Sgo1 は我々の研究室における分裂酵母を用いた遺伝学的スクリーニングによって、減数第一分裂時に姉妹セントロメア間の接着を保護する因子として同定された。その後

の研究から、分裂酵母 **Sgo1** はプロテインフォスファターゼ **PP2A** と協調して、コヒーシン **Rec8** を脱リン酸化することにより、コヒーシン切断酵素であるセパレーズからセントロメアの接着を保護しているというモデルが提唱されている（図2）。一方、**Sgo2** は、**Sgo1** とは異なり、減数第一分裂期における姉妹セントロメア間の接着の保護には必要ない。また、体細胞分裂期、および減数分裂期、いずれの分裂過程においても、正確な染色体分配を保証するために重要な役割を果たしていることがあきらかになっている示唆されていたが、その分子機構については不明であった。

私は、**Sgo2** の分子機能を明らかにすることを目的として、*sgo2* 破壊株を詳細に解析した。その結果、**Sgo2** は体細胞分裂期においても、姉妹セントロメア間の接着の保護に必要ではなく、その代わりに、間違っただ結合の修正、および「張力」がないときの **SAC** の活性化において重要な働きをもつことを見出した。**Sgo2** のこれらの分子機能は、出芽酵母および動物細胞を用いた実験から示唆されている **Aurora B** 複合体の分子機能と酷似していた。そこで、**Sgo2** と **Aurora B** 複合体の機能的相関について解析した結果、**Sgo2** は分裂前期から中期にかけてセントロメア領域において **Aurora B** 複合体と共局在することを見出した。さらに、**Sgo2** は **Aurora B** 複合体の構成因子の一つである **Bir1/Survivin** と直接相互作用することにより、**Ark1/Aurora B** のセントロメア局在化を促進する機能をもつことを明らかにした。これらの分子機能は減数分裂期においても保存されていた。また一方では、**Sgo2** は分裂後期における **Aurora B** 複合体のスピンドルミッドゾーンへの局在化には全く必要ないこともわかった。さらに、**Aurora B** 複合体のセントロメア局在化に関わる因子として、**Sgo2** とは独立に、体細胞分裂期ではコヒーシンおよびヘテロクロマチンタンパク質 **Swi6**、減数第一分裂期ではカゼインキナーゼ **I** が関与していることも見出した。最後に、**Bir1** を強制的にセントロメアへ局在化させることにより、*sgo2* 破壊株の欠損を抑圧することを示した。以上の結果から、分裂酵母シュゴシン **Sgo2** は、**Aurora B** 複合体をセントロメアに局在化させ、「張力」がないときに **SAC** を活性化し、さらに間違っただ結合の修正を促進することによって正しい染色体分配を保証する役割をもつと結論付けた（図1、2）。

本研究とそれまでの研究の解析結果を合わせると、分裂酵母の二つのシュゴシンのパラログ **Sgo1** および **Sgo2** は、それぞれ **PP2A** ホスファターゼおよび **Aurora B** キナーゼをセントロメアに局在化することにより、独自の分子機能を果たしていることになる（図2）。これは動物細胞で2つのシュゴシンがいずれも体細胞分裂期のセントロメアの接着の保護に作用していることと対照的な結果といえる。体細胞分裂が減数分裂の起源であることを考慮すると、シュゴシンの元来の分子機能は分裂酵母 **Sgo2** が担っている「二極性動原体接着の確立」であり、高等生物への進化の過程、もしくは減数分裂機構の発達の際に、「姉妹動原体の接着の保護」という分子機能を獲得した可能性が考えられる。

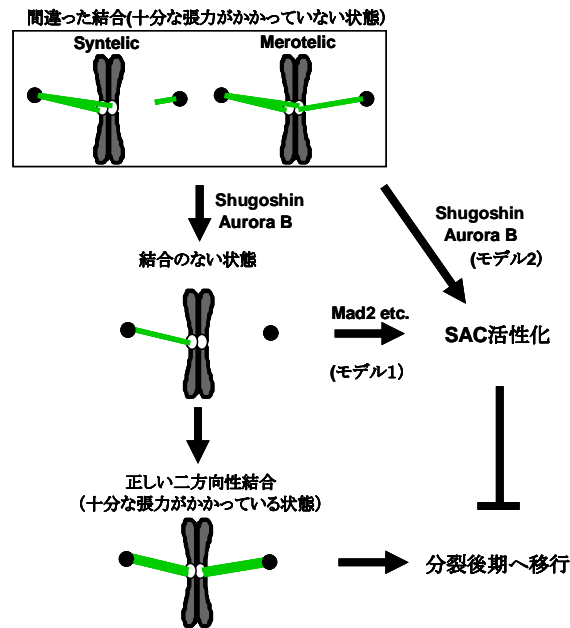


図1 張力が存在しない動原体を感知する機構

「張力」が発生しない syntelic (片側の極から延びたスピンドル微小管に姉妹動原体が捉えられる) 結合や merotelic (一つの動原体が両極からのスピンドル微小管によって捉えられる) 結合の動原体に Aurora B が集積し、間違った「結合」を解除する。そして、「結合」がなくなった動原体に Mad2 などの SAC 因子が集積することによって、SAC が活性化されるという可能性 (モデル1) と、Aurora B が直接、「張力」が発生しない動原体を感知して、SAC を活性化するという可能性 (モデル2) が考えられる。どちらのモデルにおいてもシュゴシンは Aurora B をセントロメアに局在化するのに必要であると考えられる。

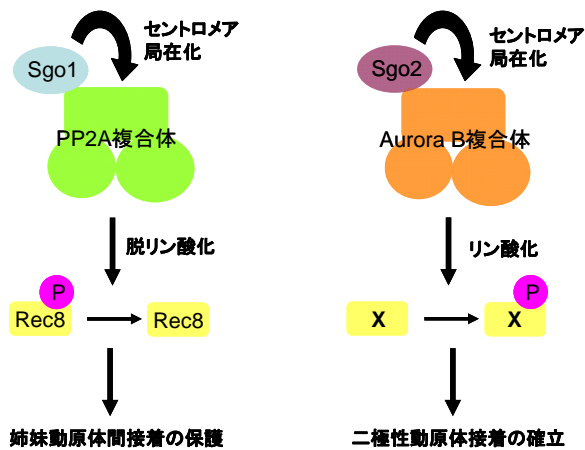


図2 分裂酵母 Sgo1 および Sgo2 の分子機能

Sgo1 はホスファターゼである PP2A と、Sgo2 はキナーゼである Aurora B と協調することにより、それぞれ独自の分子機能を果たしている。PP2A のターゲットは減数分裂型コヒーシン Rec8 であることが示唆されている。一方、Aurora B のターゲットは現在のところ不明である