

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 丹野 悠 司

全ての真核細胞は、自身の染色体を複製することで遺伝情報を倍加し、細胞分裂の際にそれを均等に分配することによって自己複製を完結する。この染色体の均等分配の誤りによって染色体数の異常が生じた場合、細胞死や癌化などが引き起こされることから、染色体分配に関わる分子メカニズムの研究は、基礎生物学とともに医学的な見地からも重要な意味をもつといえる。本研究は、分裂期における染色体分配を保証する分子メカニズムを明らかにすることを目的として行われ、姉妹染色分体の接着保護を担うことで知られるシュゴシン・タンパク質の機能解析を通じて得られた結果をまとめたものである。

第1章の序論では、体細胞分裂における染色体の動態およびその制御機構に関するこれまでの報告について、姉妹染色分体接着保護因子シュゴシンの役割を中心に概説している。これまで明らかとなっていなかった「シュゴシンによる接着保護の解除機構」ならびに「ヒトシュゴシン Sgo2 の機能制御機構」という2つの問題を提起した。

第2、3章では、「シュゴシンの局在変化がコヒーシンの接着保護機構を解除する引き金となる」ことを明らかにした。はじめに、分裂前中期におけるシュゴシンのインナーセントロメア局在が分裂中期において動原体部位へと局在変化し、インナーセントロメアにとどまるコヒーシンから解離することを見出した。この、分裂中期におけるシュゴシンの局在変化は、スピンドル微小管が動原体へと及ぼす張力に依存することを明らかにした。また、シュゴシンの局在変化を抑制した状態で分裂後期へと移行させた細胞においては、接着保護機構が維持され、コヒーシンが残存することを示した。これまで、シュゴシンがコヒーシンを保護する分子機構については報告があったが、染色体の分離に先立ってその保護機構を解除するメカニズムについては明らかとなっていなかった。本研究は、スピンドル微小管が動原体に及ぼす張力に依存したシュゴシンの局在変化が、コヒーシンの解離および姉妹染色分体の分離の引き金となることを明らかにした。

第4、5章では、「分裂期キナーゼ Aurora B によるシュゴシン Sgo2 のリン酸化が、姉妹染色分体の接着および整列を制御する」ことを明らかにした。はじめに、Sgo2 ノックダウン細胞の表現型の解析から、Sgo2 が染色体の接着および整列を制御することを見出した。次に、Sgo2 が PP2A と MCAK のセントロメア局在に必要であることを示した。次に、Aurora B が Sgo2 を *in vitro* においてリン酸化し、Sgo2 とプロテインホスファターゼ PP2A および分裂期キネシン MCAK との相互作用を促進することを見出した。PP2A との相互作用には Sgo2 の N 末端側のリン酸化が、また、MCAK との相互作用には Sgo2 の中央領域のリン酸化が必要であった。Sgo2 の N 末端側のリン酸化部位をアラニンに置換した Sgo2-N9A 変異体は、PP2A との相互作用を示さず、中央領域のアラニン置換変異体 Sgo2-M5A は、MCAK との相互作用を示さなかった。HeLa 細胞に野生型 Sgo2、Sgo2-N9A、および Sgo2-M5A を発現させ、Sgo2 RNAi のレスキュー実験を行った結果、野生型 Sgo2 は PP2A、MCAK 両方のセントロメア局在を促進したのに対して、Sgo2-N9A、M5A はそれぞれ PP2A、MCAK の局在に異常を示した。また、Sgo2-N9A 細胞では姉妹染色分体

の接着異常が観察され、Sgo2-M5A 細胞では染色体の整列に異常が見られた。以上より、Aurora B による Sgo2 の N 末端側のリン酸化は、Sgo2 と PP2A との相互作用およびセントロメア局在化を促進し、姉妹染色分体の接着を制御することが明らかとなった。また、Aurora B による Sgo2 の中央領域のリン酸化は、MCAK との相互作用および局在化を介して、染色体の接着および整列を制御することが結論された。これまで、Aurora B が分裂期の染色体動態に重要な役割を持つことは広く知られていたが、その基質に関する報告はわずかであった。本研究により、Sgo2 が Aurora B の重要な基質の一つであり、そのリン酸化によって染色体の接着と整列が制御されることを明らかにした。

以上、本研究では、ヒト体細胞分裂におけるシュゴシンの機能およびその制御機構に関する新たな知見を通じて、適切な染色体分配を保證する分子機構の一端を明らかにした。この成果は、染色体の分配異常が原因となって生じる遺伝疾患や癌の理解に大いに役立つと期待され、学術的意義も大きいと考えられる。よって、審査委員一同は、本論分が博士（農学）の学位論文として価値あるものであることを認めた。