

## 論文内容の要旨

### 論文題目

シュゴシンおよび Chromosomal Passenger Complex (CPC)のセントロメア局在化機構の解析  
Molecular mechanisms of the centromeric localization of shugoshin and Chromosomal Passenger Complex(CPC)

山岸 有哉

### <序>

生物が増殖・発生する際に行う体細胞分裂や、子孫を残すための配偶子を形成する際に行う減数分裂では、複製した染色体 DNA を正確に娘細胞に分配することが必要である。染色体分配の異常は、重篤な結果を引き起こすために、細胞は正確に染色体を分配する精巧な機構を備えている。

体細胞分裂では、複製された染色体 DNA はコヒーシと呼ばれるタンパク質複合体によって接着される。コヒーシによって接着された姉妹染色分体は、分裂期に入ると両極から伸びたスピンドル微小管によって動原体部分が捉えられ、分裂中期において赤道面に整列し、その後両極へと分配される。しかし、分裂初期においては、動原体とスピンドル微小管との間に、姉妹動原体が同方向から伸びたスピンドル微小管に捉えられるシンテリック結合などの誤った結合が存在する。姉妹染色体を赤道面に整列されるためには、このような誤った結合を修正する必要があるが、その中心を担うのが Chromosomal Passenger Complex(CPC)である。CPC は、Ark1/Aurora B、Bir1/Survivine、Pic1/INCENP、Nbl1/Borealin という進化的に保存された4つのサブユニットからなるタンパク質複合体である。CPC は、分裂前中期から中期にかけてセントロメアに局在して誤った結合をした動原体を特異的に認識し、動原体とスピンドル微小管との結合を一時的に不安定化することによって、正しい二方向性結合へと導くと考えられている。CPC が誤った結合の修正という機能を果たすためには、セントロメアに局在することが必須であるが、CPC のセント

ロメア局在の詳細な分子機構は不明な点が多かった。

減数分裂では、1回のDNA複製の後に2回の連続した染色体分配が起こる。減数分裂においても複製された染色体DNAはコヒーシンによって接着されるが、減数第一分裂期には、染色体腕部のコヒーシンのみが分解され、セントロメアのコヒーシンは分解されずに残る。こうしてセントロメアにおいて姉妹染色分体の接着が維持されることで、続く減数第二分裂では姉妹染色体ペアが認識され、分配される。このように減数分裂においては、コヒーシンが段階的に分解されることによって、第一分裂では相同染色体が、第二分裂では姉妹染色体が両極へと分配される。

減数第一分裂期においてセントロメア部分でコヒーシンを分解から保護する因子が、シュゴシン Sgo1 である。分裂酵母 Sgo1 は減数分裂期特異的に発現してセントロメアに局在し、フォスファターゼである PP2A と複合体を形成することによってセントロメアのコヒーシンを分解から保護している。一方、Sgo1 のパラログである Sgo2 は、分裂酵母において体細胞分裂期、減数分裂期双方に発現してセントロメアに局在するが、コヒーシンを分解から保護する機能は無く、CPC のセントロメア局在を促進することで姉妹染色体の二方向性結合の確立を促す機能を持っている。シュゴシンは真核生物に広く保存されたタンパク質であり、ヒトにもホモログ hSgo1 および hSgo2 が存在する。ただし分裂酵母の場合とは異なり、hSgo1 および hSgo2 は共に体細胞分裂期、減数分裂期双方に発現してセントロメアに局在し、hSgo1、hSgo2 いずれもが姉妹染色分体の接着の保護と二方向性結合の確立に寄与している。

体細胞分裂、減数分裂双方において、種を超えて非常に重要な機能を持つシュゴシンであるが、シュゴシンがその機能を発揮するためには、セントロメアに局在することが必須である。シュゴシンのセントロメア局在化には、動原体に局在するキナーゼである Bub1 のキナーゼ活性が必要であることが分かっているが、シュゴシン自体は Bub1 キナーゼの基質にはならず、Bub1 の基質の同定を含め、シュゴシンのセントロメア局在化機構については多くが謎であった。

#### <結果>

本研究において私は、分裂酵母のシュゴシン Sgo1 がヘテロクロマチンタンパク質 Swi6 と直接結合することを発見した。Sgo1 は、PXVXL モチーフと呼ばれるコンセンサス配列を介して Swi6 のクロモシャドウドメインに結合しており、Swi6 と結合できない変異型 Sgo1 は、正常にセントロメアに局在できず、減数分裂の染色体分配に異常をきたした。これらのことから、Sgo1 と Swi6 との結合が、Sgo1 のセントロメア局在を促進すると結論した。さらに、ヒト Sgo1 ホモログ hSgo1 とヒト Swi6 ホモログ HP1 も同様の様式で直接結合しており、HP1 が hSgo1 のセントロメア局在に必要であることも併せて示した。

ヘテロクロマチンタンパク質 Swi6 は分裂酵母に3種類存在する恒常的ヘテロクロマチン領域、すなわちセントロメア、MAT(mating type locus)、テロメア近傍に局在する。一方 Sgo1 が局在するのはセントロメアのみである。このことから、Sgo1 の局在をセントロ

メアのみに限局する機構の存在が予想される。これに関して私は、同時期に当研究室川島による研究で明らかになった **Bub1** キナーゼの基質であるヒストン **H2A** のリン酸化が、分裂期に **Bub1** の動原体局在に依存してセントロメア周辺でのみ起こることを発見した。さらに私は、**Sgo1** がシュゴシンファミリーに保存された **SGO** モチーフを介してリン酸化 **H2A** を含むヌクレオソームと相互作用することを見出し、このセントロメアで特異的に起こる相互作用が、**Sgo1** と **Swi6** との相互作用と協調的に働いて **Sgo1** をセントロメアへと局在化させていることを明らかにした。本研究により、シュゴシン **Sgo1** のセントロメア局在化機構の全体像が明らかになった

一方で私は、保存されたキナーゼである **Hrk1/Haspin** の機能解析を行った。**Haspin** は、分裂期にヒストン **H3 Thr3** をリン酸化するキナーゼであり、ヒト培養細胞を用いた研究から、姉妹染色分体の接着の維持に必要であることが分かっていた。分裂酵母の **Haspin** ホモログ **Hrk1** の解析を通して私は、**Hrk1** は姉妹染色分体の接着の維持には不要であるが、セントロメアを含むヘテロクロマチン領域においてヒストン **H3 Thr3** をリン酸化することで **Sgo2** とは独立に **CPC** のセントロメア局在を促進し、姉妹染色分体の二方向性結合の確立に寄与することを明らかにした。さらに私は、**Hrk1** がコヒーシンの相互作用因子として知られていた **Pds5** と直接相互作用することで染色体上へと局在していることを見出した。本研究から、**Sgo2** のセントロメア局在を促進する **Bub1** によるヒストン **H2A** のリン酸化と、**Hrk1** によるヒストン **H3** のリン酸化という、2つのヒストンのリン酸化修飾が **CPC** のセントロメア局在を規定するという興味深い機構が明らかになった。

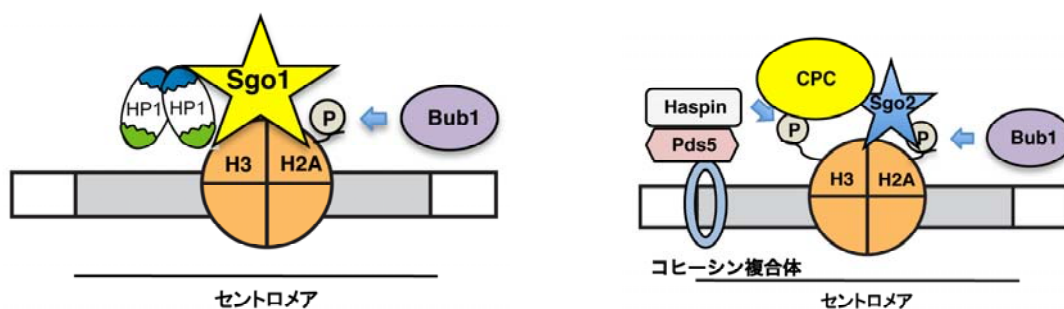
<展望>

**Sgo1** のセントロメア局在化機構に関する今後の課題としては、**Sgo1** とリン酸化 **H2A** を含むヌクレオソームとの相互作用様式をより詳細に明らかにすることが挙げられる。**Bub1** による **H2A** のリン酸化依存的な **Sgo1** のセントロメア局在制御は出芽酵母においても保存されているが、出芽酵母においては、ヒストン **H3** の変異体が **Sgo1** のセントロメア局在に影響するという報告もなされている。**Sgo1** とリン酸化 **H2A** との直接の相互作用は検出できていないことを考えると、**Bub1** による **H2A** のリン酸化は、ヌクレオソーム全体の構造を変えることで、**Sgo1** とヌクレオソームとの相互作用を制御しているのかもしれない。また、シュゴシンファミリーに保存された N 末端のコイルドコイル領域と **PP2A** との相互作用については、最近その X 線構造が解明された。しかし、今回明らかになった **SGO** モチーフとヌクレオソームとの相互作用の立体構造の解明は今後の課題である。

一方、**Hrk1** を介した **CPC** のセントロメア局在化機構に関する今後の課題としては、**Hrk1** が **H3 Thr3** をリン酸化する詳しい分子機構の解明があげられる。**Hrk1** はヘテロクロマチン以外のコヒーシン局在領域にも局在するにも関わらず、これらの領域で **H3 Thr3** のリン酸化はほとんど起こっていない。なぜ、ヘテロクロマチン領域でのみ **H3 Thr3** のリン酸化が効率よく起こるのだろうか。これに関して最近、**H3 lys4** のメチル化が *in vitro* で **H3 Thr3** のリン酸化を阻害するという報告がなされた。**H3 Lys4** のメチル化は、ユークロ

マチン領域のマーカ―として知られており、この修飾が入っているユークロマチン領域では H3 Thr3 のリン酸化が起こりにくいかもしれない。もう 1 つ今後の課題としてあげられるのが、Hrk1/Haspin の分裂期特異的な活性化機構である。核移行による制御や CDK などの他の分裂期キナーゼにリン酸化されることによる活性化などの機構が考えられる。

さらに、シュゴシンおよび CPC のセントロメア局在化機構に関する大きな問題として残されているのは、Bub1 の分裂期特異的な動原体局在化機構である。H2A のセントロメアでのリン酸化は Bub1 の動原体局在に依存しており、従って、シュゴシンや CPC のセントロメア局在化も Bub1 の動原体局在に依存している。この Bub1 の動原体局在化機構については、動原体の構成因子である KNL1 および Bub3 が必要であることが示されているが、詳細な分子機構や分裂期特異的な局在の制御機構は不明である。今後の研究によって、Bub1 の分裂期特異的な動原体局在化機構を明らかにすることで、シュゴシンおよび CPC のセントロメア局在化機構について、より包括的な理解が得られると考えられる。



図：シュゴシン Sgo1 のセントロメア局在化機構のモデル (左) CPC のセントロメア局在化機構のモデル (右)