

論文内容の要旨

論文題目

染色体凝集因子コンデンシンのクロマチン局在機構の研究

(Study of loading machinery of chromosome condensation factor condensin)

多田 健志

コンデンシンは分裂期の染色体を構成する主要なタンパク質の一つであり、凝縮した分裂期染色体の形成と分裂後期における染色体の分配に重要な機能を果たすことが知られていた。また、コンデンシンの機能を阻害するとセントロメア領域の構造異常や動原体の機能低下を招くことより、セントロメア領域においても重要な機能を担っていることが示唆されていた。本研究ではまず、分裂酵母を用いて動原体領域特異的にコンデンシンを不活性化し、同領域のコンデンシンが動原体とスピンドル微小管の結合の異常を防ぐ上で重要であることを明らかにした。動原体領域のコンデンシンが一本の染色体の同領域に複数存在するスピンドル微小管の結合部位を束ねることでコンパクトな動原体を形成し、一本の染色体が両極からのスピンドル微小管に引っ張られる結合異常(merotelic 結合)が起こるのを防いでいると考えられる。

また私は、動原体領域に濃縮したコンデンシンの局在が動原体タンパク質 Pcs1-Mde4 複合体に依存することを見出した。これまでに上記のような、一本の染色体の動原体領域に複数存在するスピンドル微小管の結合部位を束ねる機能は Pcs1-Mde4 複合体でも報告されていた。またこの"束ねる"機能は Pcs1-Mde4 複合体自身が二量体化する性質を有していることに起因していると考えられていた。しかし本研究において、Pcs1-Mde4 複合体非依存的にコンデンシン複合体を動原体領域に局在さ

せてやっても、この機能を代替出来ることが明らかとなった。このことより、少なくとも分裂酵母の体細胞分裂期においては、Pcs1-Mde4 複合体の下流でコンデンシンが実行因子としてスピンドル微小管の結合部位を束ね、動原体とスピンドル微小管の結合の異常(merotelic 結合)を防いでいるものと考えられる。今後の展望として、動原体領域のコンデンシン局在量が低下した際の、動原体構造及びスピンドル微小管の結合様式の電子顕微鏡による解析は興味深いことであると思われる。

Pcs1-Mde4 複合体によるコンデンシンの局在制御は動原体領域と rDNA 領域に特異的なものであったが、これまでの知見から染色体腕部のコンデンシンの局在は RNA ポリメラーゼ III (PolIII)の転写因子 TFIIC による制御が示唆されていた。これらを総合することで、動原体領域と染色体腕部のコンデンシンの局在は 2 つの異なるリクルーター、それぞれ Pcs1-Mde4 複合体と TFIIC によって制御されていることが明らかとなった。

分裂期キナーゼ Aurora B がコンデンシンの染色体局在に関与していることは、分裂酵母を含む多くの生物種で報告されていた。しかし、その分子メカニズムについてはこれまでのところ明らかにされていなかった。特に、コンデンシンの染色体局在に関する Aurora B の基質の同定は重要な課題の一つであった。本研究において、コンデンシン複合体の kleisin サブユニット Cnd2 が、コンデンシンの染色体局在に関する Aurora B の重要な基質であることが明らかとなった。同様の Aurora B によるコンデンシン kleisin サブユニットのリン酸化制御は、当研究室の進による、ヒト培養細胞を用いた解析からも示された。このことと合わせて、今回の発見が生物種を越えて保存された重要なものであることが示唆された。

また本研究により、Aurora B によるコンデンシン kleisin サブユニット Cnd2 のリン酸化は、Cnd2 とクロマチン因子であるヒストン H2A 及びヒストン H2A.Z との間の物理的相互作用に重要であることが明らかとなった。この Cnd2 とヒストン H2A 及びヒストン H2A.Z との相互作用によるコンデンシンの局在制御は、先ほどの Pcs1-Mde4 複合体あるいは TFIIC による領域特異的な制御と異なり、染色体の全体に渡って機能しているものと考えられる。このことより、コンデンシンの染色体局在はいくつかの階層に分かれて制御されていることが考えられる。つまり、Aurora B によるリン酸化に依存した Cnd2 とヒストン H2A 及び H2A.Z の相互作用はコンデンシンの染色体局在の根幹を成すものであり、染色体全体に渡って機能している。一方 Pcs1-Mde4 複合体あるいは TFIIC は領域特異的なコンデンシンの呼び込みに関わっていることが考えられる。実際、非リン酸化型 Cnd2-3A でもみられた動原体領域のコンデンシンの濃縮が *pcs1Δ*変異と組み合わせることで失われたこと。あるいは、Cnd2 を強制的に動原

体に局在させることでみられた *pcs1Δ*変異株の表現型の抑圧が、非リン酸化型 Cnd2-3A(ヒストン H2A 及び H2A.Z と相互作用出来ない)を用いた場合にはみられなかったことは、上述のような異なる階層によるコンデンシンの局在制御のモデルを支持しているものと考えられる。ここで、コンデンシン kleisin サブユニット Cnd2 との相互作用に重要であったヒストン H2A 及びヒストン H2A.Z の N 末端 tail 領域は、多数の翻訳後修飾を受けうることが報告されている。そこでこれらの翻訳後修飾の、コンデンシン局在に与える影響を調べることは今後の展望として興味深い。またヒストン H2A.Z 自身あるいはコンデンシン kleisin サブユニット Cnd2 との相互作用に重要であったヒストン H2A の 18 番目のアルギニンは、転写抑制や DNA 損傷の修復における機能が報告されている。そこでコンデンシンがこれらの転写抑制や DNA 損傷の修復の過程に関わっている可能性が考えられるが、そういった可能性を検討することも今後の展望として重要であると考えている。

また Aurora B によるコンデンシンサブユニット Cnd2 のリン酸化でコンデンシンの染色体局在が制御されていることは、Aurora B が分裂中にその局在を刻々と変化させていくことと考え合わせて興味深い。Aurora B は分裂中期まではセントロメア領域に局在し、分裂後期に進行するとその局在をスピンドル中央部に移すことが知られている。つまり Aurora B は、スピンドル微小管と動原体の結合が確立される分裂中期まではセントロメア領域に濃縮して動原体領域のコンデンシン局在を促進し、スピンドル微小管と動原体の間違った結合が起こるのを防ぎ、次に分裂後期になるとスピンドル中央部に局在を移して染色体腕部のコンデンシン局在を促進し、染色体の分離を促進していることが考えられる。このように本研究により、分裂期の染色体構造の時空間的な制御機構の中核を明らかにすることができたと考えられる。

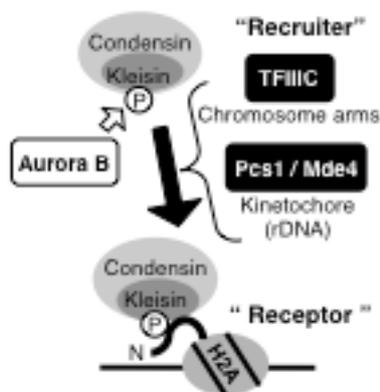


図. コンデンシンの染色体局在機構