

論文内容の要旨

コヒーシンサブユニット Pds5 による姉妹染色分体間接着および
染色体両方向性結合制御機構の研究

(The study of the mechanism regulating sister chromatid cohesion and
chromosome bi-orientation by cohesin subunit Pds5)

氏名 後藤 祐平

(序) 細胞が増殖する際に行う体細胞分裂では、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。体細胞分裂期における染色体分配の異常は、細胞死やがん化、がんの悪性化に寄与すると考えられている。このように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。

体細胞分裂過程において、S 期で複製された姉妹染色分体は、コヒーシンと呼ばれるタンパク質複合体によって接着される。複製された姉妹染色分体が分裂期で娘細胞へと分配されるまでの間コヒーシンによって接着されることにより、すべての姉妹染色分体のペアが正確に娘細胞へと分配される。また、分裂期では、セントロメアに局在化する Ark1/Aurora B キナーゼによって、誤った動原体-微小管結合が修正され、すべての染色体は両方向から伸長してきたスピンドル微小管に捉えられる両方向性結合を確立することができる。コヒーシンによる姉妹染色分体間接着と Aurora B による両方向性結合は、ともに正確な染色体分配に必須であるがその両方の制御に関わっていると考えられるのがコヒーシンアクセサリサブユニットである Pds5 である。Pds5 は、姉妹染色分体間接着安定化因子である Eso1 アセチルトランスフェラーゼと、姉妹染色分体間接着不安定化因子である Wpl1 の両方の働きを介して、姉妹染色分体間接着を制御していることが様々な生物種で知られている。さらに、Ark1 のセントロメア局在に必要な Hrk1/Haspin キナーゼも Pds5 との相互作用が示唆

されており、その局在は Pds5 に依存していることが知られている。Pds5 はこれらの因子を介して正確な染色体分配を保証していると考えられるが、その相互作用の様式および重要性、進化的な保存性については未解明であった。そこで、本研究では Pds5 とこれらの制御因子との相互作用を詳細に解析し、Pds5 がどのようにして染色体分配の正確性を保証するのかの分子機構を明らかにすることを目的とした。

(結果) 分裂酵母 Pds5 と Hrk1 の相互作用が報告されていたので、酵母ツーハイブリッド法によりどの領域が相互作用に重要であるかを調べた。その結果、相互作用に必要なペプチドモチーフを発見し、Pds5 の HIM (Haspin Interacting Motif) および、Hrk1 の PIM (Pds5 Interacting Motif) と名付けた。PIM, HIM は真核生物間で高度に保存されておりヒト PDS5B と Haspin の相互作用もこれらのモチーフに依存していることが分かった。分裂酵母細胞内において、Hrk1 の PIM または Pds5 の HIM に変異を導入すると、Hrk1 のセントロメア局在が失われた。その結果、Aurora B のセントロメア局在も失われ染色体分配の異常を誘発した。Hrk1 を強制的にセントロメアへと局在させることで、Aurora B の局在が回復し、染色体分配の異常もなくなったことから、PIM-HIM を介した Hrk1-Pds5 の相互作用は Hrk1 の局在化のみに重要であることが示された。

近年の研究から、C 末端が SUMO 化されたトポイソメラーゼ II α /Top2 も Haspin のセントロメア局在に重要であることが示唆されていたため、分裂酵母で Top2 の非 SUMO 化変異体を作成した。その結果、SUMO 化された Top2 は Hrk1 を効率的にセントロメア近傍の染色体へと呼び込み、安定な足場である Pds5 の HIM へと受け渡す役割があることが示唆された。

Pds5 の HIM への変異導入は、Hrk1-PIM 変異導入とは違い、姉妹染色分体間接着の異常を引き起こした。そこで、姉妹染色分体間接着制御因子である Eso1、および Wpl1 と Pds5 の相互作用が HIM に依存しているのではないかと考え酵母ツーハイブリッド法を用いて検証した。Eso1 および、Wpl1 のどちらも Pds5 の HIM への変異導入によってその相互作用が低下した。さらに、真核生物に広く保存された PIM を Wpl1 に発見し、Pds5 との相互作用にそれが必要であることが分かった。Eso1 にも *Schizosaccharomyces* 属のみに保存された PIM を発見し、Pds5 との相互作用に必要であることを見出した。Wpl1 および Eso1 に発見された PIM へ変異を導入すると、それぞれのタンパク質の姉妹染色分体間接着制御への働きが阻害されることから、PIM-HIM を介したこれらの因子の結合がその機能に重要であることが示された。

(まとめと展望) 本研究から、コヒーシアクセサリーサブユニットである Pds5 は、真核生物に広く保存された HIM というモチーフを用いて、Hrk1, Eso1、そして Wpl1 という複数の因子が染色体上で働くための足場となっていると考えられる。また、Pds5-HIM へと

結合するタンパク質は、共通の PIM というモチーフを持っていることがわかった。Pds5 は、Hrk1 などの下流因子より細胞内で大過剰に存在しており、それぞれのタンパク質は競合的に阻害せず、Pds5 と結合し染色体上で働いていると考えられる。

本研究では、姉妹染色分体の両方向性を担う Hrk1、姉妹染色分体間接着を制御する Eso1、Wpl1 について PIM-HIM を介した Pds5 との結合があることを示しているが、これらの他にも PIM をもち Pds5-HIM を染色体上の足場としているタンパク質が存在している可能性がある。Pds5 破壊株は染色体分配の異常のみならず、DNA ダメージへの感受性や低栄養状態からの回復に異常が見られる。これらの生命現象に関わる因子も、Pds5 の HIM を介して染色体上で機能している可能性が今後の展望として考えられる。

