

論文の内容の要旨

Moa1-Plo1 によるセントロメアの接着保護機構の研究

(Study of centromeric cohesion protection mediated by Moa1-Plo1)

宮崎聖良

<序>

生物種が存続するためには、細胞が分裂するたびに遺伝情報である染色体を正しく分配する必要がある。細胞分裂には体細胞分裂と減数分裂の二つの様式があり、前者は細胞の増殖に、後者は配偶子を形成して次の世代へと遺伝情報を継承するために重要である。このとき染色体分配にミスが生じると、細胞死や癌化など重篤な異常を引き起こし、生命の危機につながる。したがって細胞は染色体分配を正確に行うために精巧な制御を有している。

DNA 合成期に複製された染色体 DNA は、コヒーシ複合体依存的に物理的に接着され、接着された姉妹染色分体は、均等に分配すべきペアとして認識される。分裂期に入ると、姉妹染色分体は中心体から伸長して生きたスピンドル微小管によって動原体が捕らえられる。コヒーシによって姉妹染色分体が接着しているため、両極から伸びてきたスピンドル微小管によって捕らえられたときにのみ、動原体間に張力が発生し、動原体とスピンドル微小管の結合が安定化する。その結果姉妹染色分体は両極へと均等に分配される。またこのとき、全ての動原体と微小管が正しく接着するまで分裂後期進行を阻害する、紡錘体チェックポイント (SAC ; spindle assembly checkpoint) と呼ばれる機構が存在し、正しい染色体分配を保証している。

減数分裂期では DNA 複製に伴って姉妹染色分体が接着した後、キアズマを介して相同染

染色体が物理的に結合し、二回の連続した染色体分配が起きる。第一分裂ではキアズマが存在するため、相同染色体間で動原体とスピンドル微小管の結合が安定化し、姉妹染色分体は同一極へと分配される。続く第二分裂では、体細胞分裂期と同様に両極へと分配される。減数第一分裂期では、体細胞分裂期とは異なり、セントロメア中央領域がコヒーシン複合体によって接着されるため、姉妹動原体は同一方向を向きやすく、同一極から伸長してきたスピンドル微小管によって動原体が捕らえられる、一方向性結合が確立される。分裂酵母 **Moal** は一方向性結合を制御する因子として同定された、減数分裂期特異的な動原体因子であり、**Plo1** キナーゼを動原体へ呼び込んで、機能することが知られている。

分裂後期では、プロテアーゼであるセパレーズ依存的にコヒーシンが切断されることで、姉妹染色体間の接着が解除され、染色体が両極へと分配される。減数分裂期では二回の染色体分配が連続して起きるので、第二分裂を正確に行うためには、第一分裂期で姉妹染色分体間の接着が保護される必要がある。**Sgo1** は減数第一分裂期にセントロメア領域でコヒーシンを保護する因子として同定された。**Sgo1** が機能するためにはセントロメア領域へ集積する必要があり、動原体因子 **Bub1** 依存的な **H2A** のリン酸化と、ヘテロクロマチン因子である **Swi6** との相互作用に依存することが知られている。また前述した **Moal** にも、セントロメアの接着を保護する機能があることが知られていたが、その詳細な分子メカニズムはこれまで明らかになっていなかった。

<結果>

本研究で私は、減数第一分裂期において、**Moal-Plo1** が **Mph1** と協調的に **Bub1** の動原体局在化を制御する機構を発見した。*moal* 破壊株において減数第一分裂期でのコヒーシン保護の異常が観察されたことから、**Moal** が **Sgo1** のセントロメア局在に必須である **Bub1** の動原体局在を制御する可能性を検証した。体細胞分裂期において **Bub1** は、**Mph1** キナーゼによる動原体因子 **Spc7** のリン酸化依存的に動原体へ集積することが知られていたが、減数第一分裂前期から中期にかけては **Mph1** と **Plo1** の二つのキナーゼが協調的に働き、中期から後期にかけては主に **Plo1** が、**Bub1** の動原体局在を促進することを明らかにした。また、**Mph1** と同様に **Plo1** は **Spc7** の保存された MELT 配列をリン酸化し、**Bub1/Bub3** 複合体との相互作用を促進することを明らかにした。*moal* 破壊株では分裂後期において **Bub1** の動原体局在が失われる一方で、**Bub1** の下流で局在が制御される **Sgo1** のセントロメ局在は、ほとんど影響を受けなかった。これは **Bub1** がセントロメアから消失しても、**Sgo1** の局在に必要な **Bub1** 依存的な **H2A** のリン酸化レベルが、維持されていることを示唆すると考えられる。

moa1 破壊株で観察されるセントロメアの接着保護の異常は、**Bub1** の動原体局在が失われる *mph1 moa1* 二重破壊株で顕著に上昇した。また *mph1 moa1* 二重破壊株におけるセントロメアの接着保護の欠損は、**Bub1** が恒常的にセントロメアへ集積する *spc7-12E* 変異で抑圧されたことから、**Mph1** と **Moa1-Plo1** は **Bub1** の動原体局在化を介してセントロメアの接着を保護すると考えられる。一方、*moa1* 破壊株におけるセントロメアの接着保護の異常は、*spc7-12E* 変異で抑圧されなかった。このことから、**Moa1** は **Bub1** の動原体局在化制御に加えて、他の経路でもコヒーシンの保護を担う可能性が示唆された。

興味深いことに、**Bub1** 及び **Sgo1** のセントロメア局在化が低下する *spc7-12A* 変異株では、セントロメアの接着保護の欠損が観察されなかった。**Sgo1** のセントロメア局在化は、**Bub1** とヘテロクロマチン因子 **Swi6** の二つの経路で制御されることが知られている。ゆえに *spc7-12A* 変異株では **Swi6** 依存的に **Sgo1** がセントロメア集積し、機能している可能性が考えられた。実際に *spc7-12A* 変異は、*swi6* 破壊株や **Swi6** と結合できない *sgo1-VE* 変異株で観察されたセントロメア接着保護の欠損を促進した。これらの結果から、**Mph1** と **Moa1-Plo1** による **Bub1** の動原体への集積は、**Swi6** と協調して **Sgo1** のセントロメア局在化及びセントロメアの接着保護を促進することが示唆された。

<展望>

本研究において、**Moa1-Plo1** は、**Sgo1** のセントロメア局在化制御以外の経路でも、セントロメアの接着保護を促進することが示唆された。当研究室の石黒博士による解析から、**Plo1** キナーゼがコヒーシンサブユニット **Rec8** の特異的な部位をリン酸化し、このリン酸化が接着保護に重要な働きをしていることが示されている（未発表データ）。したがって **Moa1-Plo1** は、**Spc7** のリン酸化を介した **Bub1** の動原体局在化に加え、**Rec8** のリン酸化を介して、セントロメアの接着保護を制御する可能性が示唆される。今後の課題として、**Moa1-Plo1** によるセントロメアの接着保護における、両者の関係性を解析していきたい。さらに、これまでの研究からセパレーズによる **Rec8** コヒーシンの切断には、カゼインキナーゼ（**CK1**）依存的な **Rec8** のリン酸化が必要であることが報告されている。また、**Sgo1** はセントロメアにおいてホスファターゼである **PP2A** を集積させ、**CK1** によるリン酸化に拮抗することで、セントロメアの接着を保護することが知られている。ゆえに、**Moa1-Plo1** 依存的な **Rec8** のリン酸化は、**CK1** キナーゼ依存的な **Rec8** のリン酸化を抑制する、あるいは **PP2A** 依存的により脱リン酸化されやすくする制御である可能性が考えられ、さらなる解析が期待される。

さらに当研究室の金博士による解析から、分裂酵母 **Moa1** の機能的なホモログと考えられ

るマウス MEIKIN にも、Bub1 のセントロメア局在を促進する機能を持つことが明らかとなった。したがって、本研究で明らかとなった、減数分裂期における Moa1-Plo1 による Bub1 の動原体局在化制御は、高等生物においても保存されていることが明らかとなった。今後の課題としては、*Meikin*-/-マウスで観察されるセントロメアの接着保護の欠損が、BUB1 の動原体局在化制御に依存しているのか、あるいは分裂酵母 Moa1 と同様に他の経路によっても制御されているのか、さらなる解析が期待される。



図： Moa1 によるセントロメア接着保護の制御機構のモデル