

(論文内容の要旨)

M 期における染色体凝縮は姉妹染色体の正確な分配に必須の過程である。コンデンシン複合体は大腸菌からヒトなどの高等真核生物に至るまで高度に保存されたタンパク質複合体であり、染色体凝縮に中心的な役割を果たす。現在までにコンデンシンの分子活性やその制御機構など多くの知見が得られつつあるが、一方で染色体上におけるコンデンシンの結合部位や染色体への局在化機構については理解がほとんど進んでいない。そこで、本研究では主に分裂酵母をモデル生物とし、生細胞におけるコンデンシンの詳細な観察に基づいて、その染色体局在化機構と染色体上での役割について解析をおこなった。

生細胞観察の結果、コンデンシンが M 期特異的に動原体と rDNA の 2 つの染色体領域に局在し、セントロメア中央領域と rDNA 非コード領域に強く結合することが明らかとなった。さらに、各種温度感受性変異株におけるコンデンシンの観察により、その動原体局在には Cnp1/CENP-A, Mis6, Mis13 が、rDNA 局在には Nuc1/RNA ポリメラーゼ I と Acr1 (Accumulation of condensin at rDNA) タンパク質が必要であることがわかった。Acr1 は rDNA の転写促進因子群 Rrn5, Rrn7, Rrn11, Spp27 と物理的相互作用を示す rDNA 結合タンパク質であり、出芽酵母の RRN9 タンパク質と相同な領域を含んでいた。また、hMis6/CENP-I タンパク質もヒトコンデンシン II の動原体局在に必要であった。一方、Cdc2 によるコンデンシンのリン酸化と Cut15/Importin α がコンデンシンの核内移行に必要であることが確認され、Ark1/Aurora と Cut17/Bir1/Survivin が核内移行後のコンデンシンを動原体と rDNA に局在化させるのに必要であることが示された。そして、コンデンシン変異株 *cut14-208* 株では、セントロメア DNA の不均等分配や rDNA の不分離が観察された。また、*nda3^{ts} cut14-208^{ts}* 二重変異株を用いることにより、コンデンシンは M 期後期以降でも正常な染色体分配に必要であることが示された。

以上の結果、M 期においてコンデンシンは動原体と rDNA に集積し、それぞれの領域に特異的な局在化因子をもつ一方で、2 つの M 期リン酸化酵素によって核内移行と染色体上への局在が独立に制御されていることが明らかとなった。コンデンシンが動原体と rDNA 領域の正確な分離および分配に必要であることから、この 2 つの領域への局在化機構は M 期後期における確実な染色体分配のための基盤であることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

M 期における染色体凝縮は正確な染色体分配に先立つ重要な生命現象であり、この過程にはコンデンシン複合体が中心的な役割を果たすことが知られている。これまで、申請者が用いた分裂酵母をはじめ、多くの生物でコンデンシン複合体の分子活性等が報告されている。しかし、これらの知見の多くは試験管内でのコンデンシンの機能を提示するが、実際に染色体上へのコンデンシンの局在化機構や染色体上での役割を説明するものではない。申請者はこの課題に取り組むため、分裂酵母におけるコンデンシン複合体の詳細な生細胞観察を中心に研究を進めてきた。

申請者は、最初にコンデンシン複合体が M 期において染色体上に一様に局在するのではなく、動原体とリボソーム DNA (rDNA) といった特定の領域に結合していることを見出した。そして、コンデンシンがこの 2 つの領域に局在するためには、それぞれの領域に特異的なタンパク質群(動原体局在には CENP-A, Mis6, Mis13 タンパク質、rDNA 局在には Nuc1, Acr1 タンパク質)が必要であることを示した。また、ヒトの細胞においてもコンデンシンの動原体局在にヒト Mis6 ホモログが必要であることを明らかにし、この局在化機構の保存性を証明した。さらに、コンデンシンの M 期での核内移行とその後の染色体上への結合が、それぞれ Cdc2 キナーゼと Aurora キナーゼという異なる M 期リン酸化酵素で順次制御されていることも確認した。一方、コンデンシン変異株 *cut14-208* 株を用いた解析により、コンデンシンがセントロメア(動原体)と rDNA 領域の正確な分配に必要であることを明確にし、この 2 つの領域におけるコンデンシン複合体の役割を示した。

申請者は以上の結果から、M 期におけるコンデンシン複合体の染色体局在化には、コンデンシンの Cdc2 キナーゼによる核内移行、Aurora キナーゼによる制御、CENP-A や Nuc1 などによる動原体および rDNA への局在化、の 3 つの段階が必要であると結論した。コンデンシンが動原体と rDNA の分配に必要であることから、この局在化機構は正確な染色体分配の基盤となっていることが推測される。申請者の研究成果は、コンデンシン複合体自身に対する M 期での制御に加えて、染色体上の特定の領域にコンデンシンを集積させる機構が存在することを示唆しており、本研究はコンデンシンの染色体局在化機構の解明に貢献した研究として評価できる。

本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものとして認めた。

平成 20 年 4 月 18 日、論文内容とそれに関連した試問の結果、合格と認めた。