

「ゲノムの構造と機能」

平成 11 年度採択研究代表者

平岡 泰

(通信総合研究所関西先端研究センター グループリーダー)

「ゲノムの安定保持を保証する細胞核構造の解明」

## 1. 研究実施の概要

本研究は、体細胞分裂と減数分裂の過程でゲノムの安定保持に寄与する染色体と細胞核の機能構造を解明することを目的とする。この研究のための実験系として、体細胞分裂の研究には、主にヒト細胞を用いる。ヒト細胞を用いる利点は、染色体構造に影響する遺伝性の疾患が多く報告されていること、そのような患者由来の細胞が存在することなど、個々の分子の機能を細胞レベルで解析するための道具が揃っている。減数分裂の染色体構造の研究には、主に分裂酵母を用いる。分裂酵母では、体細胞分裂から減数分裂に移行する過程で、染色体構造が劇的に変化することが知られており、分子遺伝学が容易であることから、生殖分裂でのゲノム保持機構のモデル系として有用である。これらの細胞に対して、本研究グループが開発した蛍光顕微鏡システムを用いて、セントロメアやテロメア、ヘテロクロマチン領域などの染色体構造の解析を行い、他の細胞核構造との機能的関連を検討する。さらに、これらの構造から、それに関連する遺伝子群の発見に至るための新しい技術として、GFP 融合遺伝子ライブラリーを構築し、特定の細胞内局在を示すタンパク質の遺伝子を検索することを試みる。また、GFP のほかに、精製用の tag を融合させることにより、生化学精製を行う。タンパク質複合体に含まれるタンパク質を全て網羅的に同定できる。主な研究項目は、(1)体細胞分裂における細胞核構造の解析、(2)減数分裂における細胞核構造の解析、(3)GFP 融合遺伝子ライブラリーの構築、(4)細胞内局在する複合体の分離精製と構成タンパク質の網羅的な同定。

## 2. 研究実施内容

### 分裂酵母減数分裂期の染色体構造の変化

分裂酵母では、体細胞分裂から減数分裂に移行すると、染色体の配置が、セントロメアが束ねられた構造からテロメアが束ねられた構造へと、核内で劇的に変化する。その後、ヒトや出芽酵母などでも同様の構造変化が起こることが他の幾つかのグループによって発見され、このような核構造の変化が、生物種を越えて共通であることがわかった。このような背景のなかで、分裂酵母細胞を用いて、体細胞分裂期にセントロメアを SPB に留める分子や減数分裂前期にテロメアを SPB に留める分子の検索を行った。その結果、分裂酵母とヒトで共通に存在するセントロメアタンパク質 Nuf2 およびテロメアタンパク質 Rap1 を同定した。セントロメアタンパク質 Nuf2 の働きを解析した結果、染

色体の分離に必須の働きを持つことが明らかになった。この成果は論文として Chromosoma に発表した(Nabetani et al., 2001)。テロメアタンパク質 Rap1 の働きを解析した結果、減数分裂期にテロメアが束ねられるために必須の働きを持つことが明らかになった。この成果は論文として Current Biology に発表した(Chikashige and Hiraoka, 2001)。

#### 分裂酵母マイクロアレーの作製

セントロメアとテロメアの逆転という染色体核内配置の変化がどのような遺伝的な制御メカニズムによって起こるかを解析するために、分裂酵母ゲノムの全 ORF に対する DNA マイクロアレーを作製した。

#### ヒトの体細胞分裂における細胞核構造の解析

生細胞蛍光イメージング技術を用いて、分裂酵母やヒト培養細胞において染色体と細胞核構造のダイナミクスを解析してきた。現在では、生きたままのヒト細胞で、最大で4種類の生体分子を同時に蛍光で染め分け、その挙動を数日間にわたって追跡することが可能である。このような技術を用いて、核膜の構成タンパク質であるラミン B レセプター(LBR)や emerin などをマーカーとして用い、細胞分裂周期の進行に伴って、細胞核が崩壊し、再構築する過程を追跡した。特に、細胞核膜と相互作用する染色体構成成分を中心に解析を行ってきた。このような解析から核膜タンパク質 emerin の再構築に染色体タンパク質 BAF が重要な役割を果たすことが明らかになった。この成果は論文として Journal of Cell Science に発表した(Lee et al., 2001, Haraguchi et al., 2001)。

### 3. 研究実施体制

通信総合研究所 関西先端研究センター

研究代表者：平岡 泰(通信総合研究所生物情報グループグループリーダー)

### 4. 研究成果の発表

#### (1) 論文発表

- Ayumu Yamamoto and Yasushi Hiraoka. (2001). How do meiotic chromosomes meet their homologous partners?: Lessons from fission yeast. BioEssays 23, 526-523.
- Kinoshita M, Nakamura T, Tashiro K, Ihara M, Haraguchi T, Hiraoka Y, Noda M (2001) Identification of human endomucin-1 and -2 as membrane-bound O-sialoglycoproteins with anti-adhesive activity. FEBS Letters 499:121-126.
- Nabeshima, K., Kakihara, Y., Hiraoka, Y. and Nojima, H. (2001). Chromosome architecture and dynamics in meiotic prophase: a fission yeast Meu13p ensures proper homologous pairing and recombination. EMBO J. 20, 3871-3881.
- Masuda, H., Takada, S., Shibata, T., Cande, W. Z., and Hiraoka Y. (2001) In vitro approaches for the study of microtubule nucleation at the fission yeast spindle pole body. Methods in Cell Biology: In Centrosomes and spindle pole bodies (R. E. Palazzo and T. Davis, eds), 67, 167-178.
- Fukagawa, T., Mikami, Y., Nishihashi, A., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Sugata, N., Todokoro,

- K., Regnier, V., Brown, W. and Ikemura, T. (2001). CENP-H, a new constitutive centromere component, is required for centromere targeting of CENP-C in vertebrate cells. *EMBO J.* 20, 4603-4617.
- Monika Molnar, Jürg Bähler, Jürg Kohli and Yasushi Hiraoka. (2001). Live observation of fission yeast meiosis in recombination deficient mutants: a study on achiasmate chromosome segregation. *J. Cell Sci.* 114, 2843-2853.
  - Akira Nabetani, Takako Koujin, Chihiro Tsutsumi, Tokuko Haraguchi and Yasushi Hiraoka. (2001) A conserved protein Nuf2 is implicated in connecting the centromere to the spindle during chromosome segregation: a link between the kinetochore function and the spindle checkpoint. *Chromosoma* 110, 322-334.
  - Ryoji Ishida, Rika Takashima, Takako Koujin, Masao Shibata, Naohito Nozaki, Masao Seto, Hiroshi Mori, Tokuko Haraguchi and Yasushi Hiraoka. (2001). Mitotic specific phosphorylation of serine-1212 in human DNA topoisomerase II alpha. *Cell Struct. Funct.* 26, 214-225.
  - Chikashige, Y. and Hiraoka, Y. (2001). Telomere binding of the Rap1 protein is required for meiosis in fission yeast. *Current Biology* 11, 1618-1623.
  - Ayumu Yamamoto, Chihiro Tsutsumi, Hiroaki Kojima, Kazuhiro Oiwa, and Yasushi Hiraoka. (2001) Dynamic behavior of microtubules during dynein-dependent nuclear migrations of meiotic prophase in fission yeast. *Mol. Biol. Cell* 12, 3933-3946.
  - Kenneth K. Lee, Tokuko Haraguchi, Richard S. Lee, Takako Koujin, Yasushi Hiraoka and Katherine L. Wilson (2001). Distinct functional domains in emerin bind lamin A and DNA-bridging protein BAF. *J. Cell Sci.* 114, 4567-4573.
  - Tokuko Haraguchi, Takako Koujin, Miriam Segura, Kenneth K. Lee, Yosuke Matsuoka, Yoshihiro Yoneda, Katherine L. Wilson, and Yasushi Hiraoka (2001). BAF is required for emerin assembly into the reforming nuclear envelope. *J. Cell Sci.* 114, 4575-4585.
  - Noriyo Hashiguchi, Tomoko Kojidani, Tsuneo Imanaka, Tokuko Haraguchi, Yasushi Hiraoka, Eveline Baumgart, Sadaki Yokota, Toshiro Tsukamoto, and Takashi Osumi(2001) Peroxisomes are formed from complex membrane structures in PEX6-deficient CHO cells upon genetic complementation. *Molecular Biology of the Cell* 13, 711-722

(2) 特許出願

国内特許 1 件