

2023 年度年次報告書
細胞内現象の時空間ダイナミクス
2021 年度採択研究代表者

深川 竜郎

大阪大学 大学院生命機能研究科
教授

動原体超分子複合体の構造ダイナミクス

主たる共同研究者:

鐘巻 将人 (情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 教授)

広田 亨 ((公財)がん研究会 がん研究所 部長)

研究成果の概要

動原体は、その構成因子がほぼ明らかになったが、その因子がどのように集合して巨大複合体を形成するのか、不明である。深川らは、動原体構造が安定なものではなく、細胞周期の進行とともにダイナミックに構造変化を遂げることを提唱しているが、その分子機構や染色体分配機能との関連は、わかっていない。また、一つの動原体には、数十コピーの複合体が存在し、それが一つの動原体として機能している。これらのことは、再構成されたタンパク質複合体の構造解析のみでは、動原体の機能解明は不十分であり、細胞内でダイナミックに変化する動原体構造に着目しなければならないことを意味している。2023年度は、深川らが、動原体内での結合タンパク質ネットワークの変化を調べた。これまでに、KNL2とCENP-Cとが間期とM期でCENP-Aヌクレオソームへの結合を変化させていることを提唱した。本年度はKNL2のCENP-A結合領域へ変異を導入したタンパク質を発現する細胞で染色体分配の異常が観察されることを明らかにした。また、KNL2がCENP-Aの取り込みにどのように関与するのかについての解析も行い、CENP-CがKNL2を介さずに直接にHJURPと結合する可能性を示した¹⁾。さらに、動原体ユニット内の構造変化に加えて、動原体ユニット同士の自己集合と染色体分配との関連についても継続で解析し、動原体タンパク質の一つであるCENP-CのC末端領域に、自身を多量体化する能力があることを見出し、CENP-Cの多量体形成能に関わる領域を構造生物学的に明らかにした^{2, 3)}。広田らとは、超解像顕微鏡観察やライブイメージングで共同研究を行い、M期チェックポイントを解除して細胞分裂を進める背景にあるキナーゼとフォスファターゼの制御について知見が得られた。鐘巻らは、改良型AIDシステムに対して、さらに検討を行い^{4, 5)}、AIDタグとBromoタグを連結して用いることにより、より強力な分解能を付与することが可能であることを見出した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Cao J, Hori T, Ariyoshi M, Fukagawa T. 2024. Artificial tethering of constitutive centromere-associated network proteins induces CENP-A deposition without Knl2 in DT40 cells. *J Cell Sci.* 137(3):jcs261639. doi: 10.1242/jcs.261639. (2024)
- 2) Ariyoshi M, Fukagawa T. 2023. An updated view of the kinetochore architecture. *Trends Genet.* 39(12):941-953. doi: 10.1016/j.tig.2023.09.003. (2023)
- 3) Hara M, Ariyoshi M, Sano T, Nozawa RS, Shinkai S, Onami S, Jansen I, Hirota T, Fukagawa T. 2023. Centromere/kinetochore is assembled through CENP-C oligomerization. *Mol Cell.* 83(13):2188-2205.e13. doi: 10.1016/j.molcel.2023.05.023. (2023)
- 4) Lim Y, Tamayo-Orrego L, Schmid E, Tarnauskaite Z, Kochenova OV, Gruar R, Muramatsu S, Lynch L, Schlie AV, Carroll PL, Chistol G, Reijns MAM, Kanemaki MT, Jackson AP, Walter JC. In silico protein interaction screening uncovers DONSON's role in replication initiation. *Science* eadi3448. doi:10.1126/science.adi3448. (2023)
- 5) Park DS, Nguyen SC, Isenhardt R, Shah PP, Kim W, Barnett RJ, Chandra A, Luppino JM, Harke J, Wai M, Walsh PJ, Abdill RJ, Yang R, Lan Y, Yoon S, Yunker R, Kanemaki MT, Vahedi G, Phillips-Cremens JE, Jain R, Joyce EF. High-throughput Oligopaint screen identifies druggable 3D genome regulators. *Nature* 620:209–217. doi:10.1038/s41586-023-06340-w. (2023)