

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

2021 年度 年次報告書

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

§ 1. 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り、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?また、動原体がいかにして染色体分配を達成させるのか?と言う問いに答える研究が今後の中心になると予想している。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、その分子機構と機能との関連で不明な点も多い。そこで、本研究では、1) どのような構造変化が起きるのか? 2) この構造変化を制御する分子機構は? 3) 構造変化と染色体分配との関連の詳細は? の問いに答える研究を行っている。2021年度は、深川グループで、CENP-C やその関連タンパク質とセントロメアクロマチンの結合ダイナミクスに関して進展が見られ、各種イメージング解析においても、進捗が見られた。また、広田グループとは、超解像顕微鏡観察や、ライブイメージングに関して、鐘巻グループとは、改良型 AID システムに関して、共同研究体制が確立できた。

§ 2. 研究実施体制

(1) 深川グループ

- ① 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)
- ② 研究項目
 - ・動原体構造変化の構造生物学的解析
 - ・Expansion 法の検討
 - ・各種 AID 変異体の動原体動態解析
 - ・動原体因子のオリゴマー形成と染色体分配機能との関連解明

(2) 広田グループ

- ① 主たる共同研究者: 広田 亨 ((公財)がん研究会 がん研究所 部長)
- ② 研究項目
 - ・STORM と Expansion 法を組み合わせた超・超解像イメージング
 - ・ライブ観察による動原体構造変化制御機構の解明

(3) 鐘巻グループ

- ① 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)
- ② 研究項目
 - ・AID システムの改良
 - ・オルガノイドやマウス個体における動原体タンパク質の機能解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) Takenoshita Y, Hara M, Fukagawa T. "Recruitment of two Ndc80 complexes via the CENP-T pathway is sufficient for kinetochore functions." *Nature Communications* Vol.14, 851. doi: 10.1038/s41467-022-28403-8. (2022)
- 2) Watanabe R, Hirano Y, Hara M, Hiraoka Y, Fukagawa T. "Mobility of kinetochore proteins measured by FRAP analysis in living cells." *Chromosome Res.* doi: 10.1007/s10577-021-09678-x. (2022)
- 3) Nishimura K, Fukagawa T. "A Simple Method that Combines CRISPR and AID to Quickly Generate Conditional Knockouts for Essential Genes in Various Vertebrate Cell Lines." *Methods Mol Biol.* Vol. 2377, 109-122. doi: 10.1007/978-1-0716-1720-5_6. (2022).
- 4) Negishi N, Kitagawa S, Horii N, Tanaka Y, Haruta N, Sugimoto A, Sawa H, Hayashi K, Harata M, Kanemaki MT. "The auxin-inducible degron 2 (AID2) system enables controlled protein knockdown during embryogenesis and development in *Caenorhabditis elegans*" *Genetics*, 220, iyav218 (2022)
- 5) Kanemaki MT. "Ligand-induced degrons for studying nuclear functions" *Curr. Opin. Cell Biol.*, 74, 29-36 (2022)