

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名：染色体分配メタボリズムを支える分子ネットワークの解析

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点):

研究代表者

柳田 充弘(京都大学大学院生命科学研究科 特任教授)

3. 研究実施概要

細胞の恒常性は一定染色体数の維持によって支えられる。本研究では、細胞分裂にともなう正確な染色体分配の背後にある物質代謝メタボリズムの制御に着眼し、新規制御メカニズムの存在を発見し、それらのしくみを解明しようとするものである。染色体分配メタボリズムを支える分子ネットワーク解析のために、(1)染色体分配を導く栄養源切り替え因子群の包括的同定、(2)染色体分配期後期におけるセパレーズ・プロテアーゼ活性制御の統合的解明、(3)ヒストンの脱アセチル化およびアセチル化による染色体・動原体クロマチンの構築制御のサブテーマで研究を行った。栄養シグナルとM期制御について現在研究は佳境に入っており今後大きな発展を期待している。これまで、原著論文(国際誌、peer reviewあり)として30報を公表したが、多くの研究成果の公表はどうしても終了後2年ほどの期間を必要とする。以下に研究成果の要旨を箇条書きする。(1-1)メタボローム解析法の導入に成功した。沖縄科学技術整備機構G0研究室の質量分析機を用いた研究の寄与が大きく、数千のピークの検出と130種の代謝物を同定した。網羅的測定により、増殖時・静止G0時の遷移における非常に大きなメタボリックな変動が明らかとなった。(1-2) 限定グルコース濃度下でM期進入に必須となるSsp1キナーゼとSds23ホスファターゼ阻害因子を発見し生理的意義を解明した。Ssp1はグルコース認知とM期進入の鍵を握る重要因子であり、TORやCDKとの関わりもあった。(1-3)グルコース各濃度に対するバイオマーカーの存在を見いだした。グルコース絶食下での細胞寿命は飢餓前処理によって著しく延長する。グルコース飢餓では抗酸化ストレス物質の産生が著しく、酸化ストレスに対応することが細胞寿命と直結すること、またグルコース飢餓が細胞静止の理解に役立つことを見いだした。(1-4) 低グルコース下でも増殖可能とするLGS遺伝子群の同定。Ssp1やSds23はLGSの最初の2例であるが、多数のLGS遺伝子を同定した(久留米大斉藤グループとの共同研究)。(1-5) 窒素源認識の制御因子TORC1複合体の機能同定と、TORのみならずATM/ATRやTRAなどのPIKK巨大複合体と結合するTel2・Tti1などの発見とその機能解析。すなわち新規に見いだされたTel2, Tti1複合体がTor1, Tor2, Rad3/ATR, Tel1/ATM, Tra1, Tra2 などのPIKKキナーゼのすべてと結合することを見いだした。(1-6) TORC2複合体の機能解析でTORC1とは非常にことなることを見いだした。(1-7) 窒素源枯渇下に生存性維持に必須となるスーパーハウスキープ遺伝子群の同定。ヒトにも保存される興味深い遺伝子が多数含まれ、窒素源飢餓応答機構解明に重要な貢献をした。(2-1) 浸透圧ストレスがセキュリン・セパレーズ機能に影響を与えることを見いだした。(2-2) AAA ATPaseであるCdc48はセキュリン・セパレーズの安定化因子である。(2-3) TOR複合体は上述のように栄養源感知・細胞成長に関わる最重要キナーゼであることはよく知られているが、我々はTORキナーゼと染色体分配の中心的プレイヤーであるセキュリンとセパレーズが機能的に結びつくことを明らかにした。(2-4) コヒーシンサブユニットRad21とセキュリン/Cut2のリン酸化と生理的意義。(2-5) アナフェーズ開始に必須なタンパク分解の統合的理解。ブリンキン機能の発見、コンデンシン機能の理解の進展。(3-1) またヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤の染色体分配における効果の解析からアセチル化酵素や脱アセチル化酵素が染色体分配に重要な役割を果たすことを証明できた。ヒストンアセチル化と脱アセチル化によるセントロメア/キネトコアクロマチン構築形成の制御。CENP-Aを始めとするセントロメアクロマチンタンパク

質の取り込みの制御にアセチル化および脱アセチル化酵素が重要な役割を果たしていることも見いだした(3-2)アセチルCoAの生合成からみたキネトコア形成;温度感受性株を用いたアセチルCoA合成系酵素系の細胞機能と染色体分配への関与。

4. 事後評価結果

4-1. 研究の達成状況及び得られた研究成果(論文・口頭発表等の外部発表、特許の取得状況等を含む)

染色体分配の背後にあるメタボリズムの制御の存在とメカニズムの解明に向け、定量的かつ網羅的なメタボローム解析技術を独自に開発し、分裂酵母の CoA, アセチル CoA の合成に関わる3種類の酵素の変異株を取得し、アセチル CoA 合成系とヒストン脱アセチル化・アセチル化を介する染色体分配との関連などを明らかにした。また、窒素枯渇時と同様に G2 期での細胞伸張が起こらないまま細胞分裂が起こる *tor2* 変異株の解析から、M 期進入時に TOR 経路を負に制御することで細胞伸長に栄養が利用されるのを抑制している可能性を示した。グルコースの観点からは、低グルコース濃度下でも増殖可能とする LGS 遺伝子群を同定し、その一つである *Ssp1* はグルコース認知と M 期進入の鍵を握る因子であることなどを明らかにした。さらに、染色体分配後期におけるセパレーズ・プロテアーゼ活性制御機構の詳細を解明するとともに、TOR 複合体によるセパレーズのリン酸化との関係を示した。研究は、メタボローム解析も含めて当初の目標に沿って着実に行われ、極めて広範に亘りレベルの高い研究成果が得られている。論文・口頭発表も、優れた総説を含めて十分評価できるものである。現在、欧文原著発表は31件であるが、今後2〜3年の間に幾つもの成果が論文発表される予定になっている。平成21年度に3件の新聞報道が行われた。

4-2. 研究成果の科学技術や社会へのインパクト、戦略目標への貢献

染色体分配という重要且つ高次の生物学的機能に対して、メタボロームという新たな切り口で研究を展開し、独創的な成果を挙げた点、学術的価値は極めて高いと判断する。同時に、本領域研究の戦略目標にも合致・貢献するものである。本研究は、現在大きな注目を集めている動物の幹細胞を理解するためのモデル系として関心を集めつつあり、医学分野への反映が期待できる。

4-3. 総合的評価

研究代表者は分裂酵母を用いた染色体分配の遺伝学研究を長年に亘り行い、世界をリードする研究成果を数多く挙げてきた。本研究では、染色体分配の背後にあるメタボリズムを支える分子ネットワーク解明に向け、1. 染色体分配を導く栄養源切り替え因子群の包括的同定、2. セパレーズ・プロテアーゼ活性制御の統合的解析、3. ヒストン脱アセチル化、メチル化によるセントロメア構築制御の解明、の三つのテーマについて極めて広範に研究が展開された。研究代表者にとってメタボローム解析は未経験の分野であったが、独自に解析システムを立ち上げ、初期の研究目標に沿って着実に成果を収めた。メタボローム研究に新しくチャレンジして得られた5年間の成果としては、鮮やかであり、総合的に高く評価できる。しかし、染色体分配の背後にあるメタボリズム研究は壮大なテーマであり、5年間の内では解決し切れなかった重要な課題が多く残されており、遺伝学的解析と共に、今後の更なる展開を期待する。