

## 平成23年度学融合推進センター学融合研究事業 成果報告書

研究テーマ名称	複合的アプローチを用いた中心体複製の分子機構の解析
応募事業区分	若手研究者研究支援事業
申請代表者氏名	北川 大樹

## ○ 研究状況報告

初年度においては、進めていた研究計画の一部が完了し、2報の論文(論文1,2)を発表することができた。ここから発展させた研究計画や、研究室発足後に新たな発想、研究環境をベースに立案した研究計画に関して具体的なスキーム、共同研究者などの研究体制をある程度確立できたのは初年度の大きな収穫である。また、線虫遺伝学及びヒト培養細胞における機能ゲノミクスを用いたスクリーニングの段階はほぼ終了しており、現在は同定した中心小体複製に関与する新規因子群の機能解析を精力的に進めている(一部は既に論文として発表、論文1,2)。特に、中心小体複製ライセンス化制御の分子機構に関しては、中心小体過剰複製を抑制する新規因子の同定に成功しており、現在その詳細なメカニズムを検証している段階である。論文作成のためのおおまかなフレームは既に出来上がっており、来年度の論文掲載が期待される。また、スクリーニングを通じて、中心小体 *in vitro* 再構成に必要であることが予想される因子群の選定が進んでおり、来年度はこのアッセイ系を用いて中心小体構築の分子モデリングを進め、その構築機構に介在する普遍的原理を追求する。以上のように、本研究計画は順調に進展しており、学融合推進センターからの継続的な支援が期待される。

## ○ 当該事業年度において達成された研究成果

1)線虫遺伝学および機能ゲノミクスを利用した小規模スクリーニングにより、中心小体複製制御に関与する新規因子、PP2A ホスファターゼを同定した。また、PP2A ホスファターゼが SAS-5/SAS-6 複合体の中心小体への局在を制御することで中心小体複製の開始段階において機能することを示した (Kitagawa D. et al. (2011) *Dev Cell* にて発表)。

2)ヒト中心小体構成因子群のインタラクトーム解析、フェノーム解析から中心小体複製に必須の新規因子 STIL/MCPH7 を同定し報告した (Kitagawa D. et al. (2011) *JCS* にて発表)。また、がん細胞に観察される中心小体過剰複製の表現系を抑制すると推測される新規因子 RBM14 を同定することに成功した。平成24年度はこの新規因子の機能解析を重点的に遂行する予定である。

3)中心小体複製開始に必須の因子である SAS-6 の結合因子として Cep135 を酵母ツーハイブリッド法により同定することに成功した。現在、SAS-6 およびこの結合因子からなる蛋白質複合体の構造を *in vitro* 再構成系を用いて解析中である。

## ○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト (論文があれば添付)

1. **Kitagawa D.**, Kohlmaier G., Keller D., Strnad P., Balestra F.R., Flückiger I. and Gönczy P. (2011) Spindle positioning in human cells relies on proper centriole formation and on the microcephaly proteins CPAP and STIL. *J. Cell Sci.*, 124, 3884-3893
2. **Kitagawa D.**, Flückiger I., Polanowska J., Keller D., Reboul J. and Gönczy P. (2011) PP2A phosphatase acts upon SAS-5 to ensure centriole formation in *C. elegans* embryos. *Dev. Cell*, 20, 550-562

## 平成24年度学融合推進センター学融合研究事業 成果報告書

研究テーマ名称	複合的アプローチを用いた中心体複製の分子機構の解析
応募事業区分	若手研究者研究支援事業
申請代表者氏名	北川 大樹

## ○ 研究状況報告

中心小体は真核生物において進化上保存された細胞小器官であり、中心体の中核として機能する。中心小体の自己複製は二極化した分裂期紡錘体の形成に重要であり、娘細胞への均等な染色体分配、ゲノム安定性維持に深く関与している。一方、中心小体複製のライセンス化、すなわち細胞周期ごとに一度だけ中心小体の複製が起こる事を保証し、過剰な複製を抑制する制御機構の実体は明らかにされていない。本研究では、中心小体プロテオーム、ヒト培養細胞における機能ゲノミクス解析を組み合わせ、中心小体複製のライセンス化を制御する新規因子 RBM14(RNA-Binding Motif protein 14)の同定に成功した。この分子の発現抑制により、中心小体の過剰複製が誘発されることを見出したが、驚くべき事にこれら中心小体は細胞質中にて *de novo* 合成されることを明らかにした。以上の結果は中心小体 *de novo* 合成による染色体不安定化が細胞がん化の原因となる可能性を提示しており、今後その分子基盤の包括的な理解を目指す予定である。本研究は、助成期間中に研究シーズ探索のステージから開始し、最終的に論文としてまとめあげるに至った点において非常に順調に進展した。また、*de novo* 中心小体合成という新たな中心小体構築様式の発見により、今後さらに興味深い分野に発展していくことが期待される。

## ○ 当該事業年度において達成された研究成果

本研究により、新しい中心小体構築のメカニズムが提示された。すなわち、これまでは新たに形成される娘中心小体は必ず母中心小体の近傍で生じると考えられていたが、本研究では既存の中心小体存在下でも *de novo* 合成経路を介して新たな中心小体様構造体が細胞質中に形成されることを示した。これまでの知見では、既存の中心小体を物理的に除去した場合のみ、中心小体 *de novo* 合成が開始されるとされており、通常は既存の中心小体は何らかの形で *de novo* 合成を抑制していると考えられていた。本研究の結果は、既存の中心小体が存在していても *de novo* 合成が起こる事を示しており、また、これらの過剰な中心小体様構造体がゲノムの不安定化を誘発する可能性を提示している。実際、RBM14は腎臓がんの原因遺伝子の一つとして報告されていることから、本研究で解析したような中心小体様構造体が染色体不安定化を誘導し、細胞がん化の引き金になる可能性が考えられる。本研究の結果により、中心小体 *de novo* 合成経路の抑制機構を含む、中心小体複製ライセンス化制御に関する分子基盤の基礎的な情報が得られた。近年、中心小体の過剰複製と細胞がん化の関与が増々指摘されるよう

(様式 3)

平成24年度学融合推進センター学融合研究事業 成果報告書

になってきており、中心小体複製の素過程における知見は細胞がん化メカニズムの解明にも寄与することが期待される。本研究助成期間中(2年間)に上述の内容を得、まとめあげた論文を現在投稿中である(下記参照)。

- 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト(論文があれば添付)  
Gen Shiratsuchi, Katsuyoshi Takaoka, Tomoko Ashikawa, Hiroshi Hamada and Daiju Kitagawa  
“RBM14 prevents de novo assembly of centriolar proteins and maintains genome integrity”  
(under revision in Dev Cell)