

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	急峻な染色体分離を実現する時空間的制御特性の解析
Title(English)	
著者(和文)	小西 惇
Author(English)	Makoto Konishi
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10742号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:立花 和則,伊藤 武彦,川上 厚志,木村 宏,岩崎 博史,広田 亨
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10742号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻:	生命情報	専攻
Department of		
学生氏名:	小西 惇	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野):	博士 (理学)
Academic Degree Requested	Doctor of
指導教員 (主):	立花和則 准教授
Academic Supervisor(main)	
指導教員 (副):	
Academic Supervisor (sub)	

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

染色体分配は、複製されたゲノム DNA を均等に娘細胞に分配する過程である。この分配過程は、細胞分裂中期に紡錘体が形成されて細胞の赤道面に並んだ姉妹染色体が、後期開始とともに姉妹染色体間の接着を解除されて一斉に紡錘体の極方向に移動することによって実現する。分裂中期に全ての動原体が紡錘体微小管と結合することによって紡錘体チェックポイントが解除されると、ユビキチンリガーゼである後期促進複合体 (APC/C) が活性化される。代表的な APC/C の基質であるセクリンとサイクリン B は、それぞれ姉妹染色体の分離を実行するプロテアーゼであるセパレースの抑制因子と、M 期サイクリン依存性キナーゼ 1 (Cdk1) の活性化サブユニットである。すなわち、APC/C の活性化によって後期には、セパレースの活性化による染色体分離と Cdk1 活性の低下が同時期に引き起こされている。しかし、これらの APC/C 基質の細胞質や染色体における局在や、それぞれの細胞内コンパートメントにおける分解のされ方についてはよくわかっていない。また、セパレー스는サイクリン B1-Cdk1 と後期移行のタイミングで結合して、Cdk1 の活性を抑制することが知られているが、その活性抑制の程度や、セパレースの急峻な活性化に与える影響については不明であった。本研究では、これらの M 期を制御する生化学的反応が、いかにしてロバストでかつ不可逆的な制御下にあるのかを明らかにするため、数理モデルによる検討を行おうと考えた。中期から後期にかけておこるセクリンとサイクリン B1 の分解と、それに続くセパレースの活性動態に焦点を絞り解析することを目的とした。具体的には、各因子の濃度変化を生化学的に測定し、定量結果に基づく数理的なシミュレーションを、細胞質と染色体画分に分けて実施し、構築したモデルから染色体分配の急峻さを実現しているメカニズムを解明することを試みた。

まず、EGFP タグ付きタンパク質を発現する細胞株を用いて、M 期の HeLa 細胞が持つセクリン、サイクリン B1、セパレースの分子数の定量を行なった。細胞質と染色体を分割して定量した結果、M 期の染色体にはサイクリン B1 が高濃度に存在することが明らかになった。さらに、中期から後期に移行する細胞においても、APC/C 基質の定量を行なった。その結果、染色体上の APC/C 基質の分解は、細胞質に比べて遅延していることが明らかになった。続いて、セクリンとサイクリン B1 の分解と APC/C の活性化について数理モデルを作成し、進化的プログラミングの手法によって、細胞質と染色体のそれぞれの分画におけるモデルの最適化を行なった。これに基づき、セクリンやサイクリン B1 とセパレースの複合体形成の数理モデルを作成した。その結果、細胞質では、「セクリン - セパレース複合体の減少に伴い、セパレースが活性化する」という、従来から示されている機構の再現となった。一方、染色体では、中期にはセクリンだけでなくサイクリン B1 もセパレースと結合してその活性抑制に関与しており、後期にはセクリン - セパレース複合体の減少に伴うサイクリン B1 - セパレース複合体の一時的な増加が見られた。また、モデル中でのセパレース SA 変異体 (サイクリン B1-Cdk1 と結合ができない) における条件を再現すると、後期の染色体上での Cdk1 の活性の残存が予測された。染色体上の Cdk1 活性の残存を反映する Cdk1 基質の候補分子の探索を行ない、SA 変異体を発現する細胞では、M 期染色体表層に局在する Ki67 タンパク質の後期移行時の脱リン酸化が遅延していることが明らかになった。

本研究は、細胞内での分子の数の違いを考慮してヒト培養細胞における APC/C 基質の分解を定量し、その結果に基づく数理的解析をしたものであり、従来の研究とは一線を画している。特に、「染色体」という細胞内の特定のコンパートメントにおける APC/C 基質の存在量や存在比、それらの分解動態の特性を見出すことにより、染色体というプラットフォーム特異的に存在する生化学的な反応或いはそのバランスが明らかになった。これらの知見は、分裂期進行と染色体分配過程との関係機構の解明のみならず、生理的に大きな細胞質をもつ卵、或いは病的に小さな細胞質をもつがん細胞において、染色体分配機構の解明を進めるうえで不可欠な視点であると考えられる。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻：	生命情報	専攻
Department of		
学生氏名：	小西 惇	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(理学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主)：	立花和則	准教授
Academic Supervisor(main)		
指導教員 (副)：		
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)
Thesis Summary (approx.300 English Words)

Separation of sister chromatids is a drastic and irreversible step in the cell cycle. The key biochemistry behind this event is the proteolysis mediated by the ubiquitin ligase called the anaphase promoting complex, or APC/C. Securin and cyclin B1 are the two established substrates for APC/C whose degradation releases separase and inactivates cyclin B1-dependent kinase 1 (cdk1), respectively, at the metaphase-to-anaphase transition. In this study, we have combined biochemical quantifications with mathematical simulations to characterize the kinetic regulation of securin and cyclin B1, in the cytoplasmic and chromosomal compartments, and found that they are differentially distributed and degraded with different rates. Modeling their interaction with separase predicted that activation timing of separase well coincides with the decline of securin-separase concentration in the cytoplasm. Notably, it also coincides with the peak of cyclin B1-separase level on chromosomes, which appeared crucial to coordinate the timing for separase activation and cdk1 inhibition. We have also conducted phosphoproteomic analysis and identified Ki67 as a chromosomal cdk1 substrate whose dephosphorylation is facilitated by cyclin B1-separase interaction in anaphase.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).