

# 分裂期の進行に関わる CUEDC2 のリン酸化

千葉大学大学院医学薬学府 4年博士課程1年 長谷川 仁美

## Cdk1-phosphorylated CUEDC2 promotes spindle checkpoint inactivation and chromosomal instability

Gao YF, Li T, Chang Y, *et al.*,

*Nat. Cell Biol.* 13, 924-933 (2011)

がん細胞は異常な分裂を繰り返し、無制限の増殖能を持つ細胞である。分裂期の細胞は複雑なシグナルを備え、染色体を分配していく。分裂期のシグナルを詳しく解明することも、がん細胞増殖の制御に繋がると考えられる。

分裂の準備が整った細胞は分裂前期に入る。前中期になると核膜崩壊が起き、中期では染色体が整列する。この頃、全ての染色分体がキネトコアという部分で微小管と結合するまで分裂期の進行を停止させる、spindle assembly checkpoint (SAC)機構が働く。次に anaphase-promoting complex/cyclosome (APC/C)というユビキチンリガーゼにより分裂の進行を抑制するセキュリンが分解され、セキュリンにより抑制されていたセパレーズが活性化し、染色体同士を繋いでいるコヒーシンを分解する。それ故、染色体分配が進み細胞分裂を後期に進める。今回の報告により新たなシグナルが加わった。

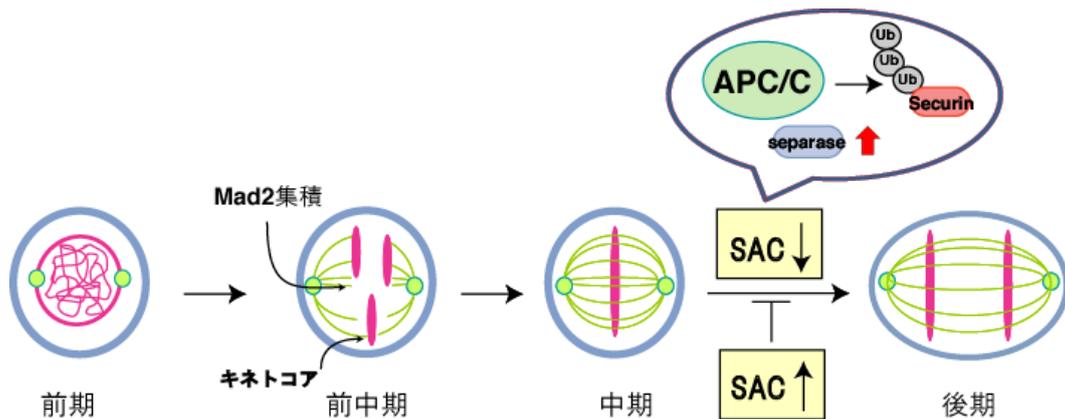


図1 分裂期における APC/C と SAC

CUEDC2 は、CUE ドメインというユビキチン結合モチーフ含有蛋白質である。プロゲステロン受容体に結合し受容体の分解に関与することや、タモキシフェンに対する乳がん細胞の反応性に関与する事が知られているが、分裂期における機能の報告はない。偶然にも、筆者らが細胞周期の phase ごとの WB 解析をしたところ、分裂期の細胞においてバンドが上にシフトする結果を得た。リン酸化によるバンドシフトであると考えられた為、質量解析を行ない、Ser110 がリン酸化サイトであることを示した。さらに、kinase assay により、CUEDC2 が CDK1 によりリン酸化されることがわかった。次に、分裂期における CUEDC2

の機能を解明するために、CUEDC2 をノックダウンしたものとしていないものとの、time-lapse imaging により比較した。その結果、CUEDC2 をノックダウンすると、後期の始まる時間が遅れる事がわかった。ゆえに、中期から後期への移行にリン酸化 CUEDC2 が関わっているのではないかという仮説が立てられた。そこで筆者らは、キネトコア同士の距離や、attachment により起こる Mad2 (紡錘糸に結合していないキネトコアに集積する蛋白質)の解離にかかる時間を調べたが、CUEDC2 をノックダウンし、コントロールと比較しても変化がなかった。よって CUEDC2 のノックダウンによりキネトコアと微小管の attachment やキネトコアにおける SAC 活性化を引き起こさないことがわかった。また、分裂期における CUEDC2 の局在は細胞質に一様に見られたことから、キネトコアでの制御ではなく、それ以降のシグナルに関わる可能性が考えられた。そこで、CUEDC2 と Mad2 の両方をノックダウンしたところ、CUEDC2 のノックダウンの影響がなくなるという結果を得た。よって CUEDC2 ノックダウンにより引き起こされる後期開始の遅延は Mad2 に依存することがわかった。さらに、CUEDC2 のノックダウンにより cyclin B や securin の分解が抑制されることや Geminin のユビキチン化が減少する事が明らかとなった為、CUEDC2 は APC/C を介するユビキチン化に関与することが考えられた。

それではどのように APC/C に関わるのか。APC/C を活性化する Cdc20 は、Mad2 などと会合することで活性が制御されることが知られている。筆者らは、CUEDC2 と Cdc20、Mad2 との会合を免疫沈降により調べた。その結果、CUEDC2(1-190)ドメインと、Cdc20(175-499)ドメインが直接的に、Mad2 とは間接的に会合することがわかり、会合には CUEDC2 Ser110 のリン酸化が必要であることがわかった。さらに、APC/C-Cdc20 の活性化には Mad2 の解離が不可欠であるが、CUEDC2 Ser110 のリン酸化と CUE ドメインが Mad2 の解離に関わる事が明らかとなった。最後に、CUEDC2 の過剰発現により染色体の分離異常や aneuploidy が起こる事、さらに悪性度の高い癌細胞において CUEDC2 の発現量が高いという結果を示している。

分裂期における細胞内シグナルはとても複雑で、関わる蛋白質は数知れない。今回、新たに分裂期に関わる蛋白質として、CUEDC2 が、スピンドルチェックポイントの不活性化、APC 複合体からの Mad2 解離促進を起こすことが示された。今後も、分裂期に関与する新たな蛋白質が解明されていくだろう。

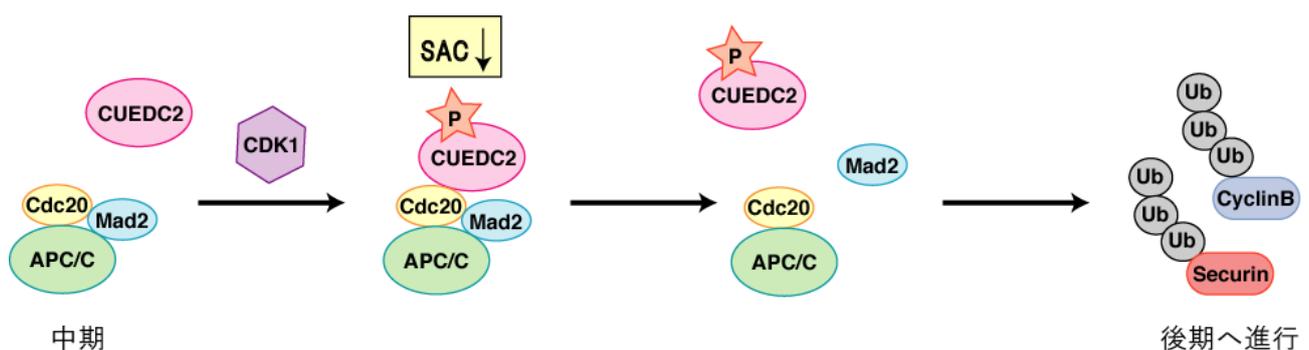


図 2 分裂期における CUEDC2 が関わるシグナル