OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Functional genetics with a hypomorphic CENP-C mutant reveals a regulatory system for chromosome congression
Author(s)	Miao, Jiahang
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105272
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　MIAO JIAHANG　）	
論文題名	Functional genetics with a hypomorphic CENP-C mutant reveals a regulatory system for chromosome congression (機能的ゲノミックスクリーニングによる染色体整列機構の解明)

論文内容の要旨

It is fundamental to understand how genetic information is faithfully transmitted to the next generation. During cell division, chromosomes, the vehicle of genetic information, must congress and align at the spindle equator. Once each chromosome is stably attached to the spindle microtubules, they are equally segregated into two daughter cells. In the initial step in mitosis, chromosome congression is a critical process that ensures proper alignment of chromosomes at the spindle equator via kinetochore-microtubule interactions. Although defects in chromosome congression can lead to misalignment and subsequent chromosomal instability, detail mechanisms on chromosome congression are still largely unknown. Here, I conducted a genome-wide Cas9-based functional genetics screen using a hypomorphic CENP-C mutant that affects its kinetochore interactions and identified KIF18A, whose knockout resulted in synthetic mitotic defects with the CENP-C mutant. My live cell imaging experiment suggests that the defect of KIF18A causes chromosome congression errors. Further analysis revealed that the synthetic defect was due to a reduction of CENP-E function in the CENP-C mutant during early prometaphase. Based on these results, I conclude that KIF18A cooperates with CENP-E downstream of CENP-C to promote the congression of peripheral chromosomes, facilitating chromosome alignment to the spindle equator. I also found that CENP-E levels at kinetochores are reduced in several KIF18A sensitive cancer cell lines. Thus, my study allowed us to dissect parallel molecular mechanisms for chromosome congression and identify sensitivities and candidate biomarkers that may guide future anti-KIF18A chemotherapeutics.

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　MIAO JIAHANG　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主査　教授　深川竜郎 副査　教授　甲斐歳恵 副査　教授　佐々木洋 副査　教授　廣瀬哲郎	

論文審査の結果の要旨

生物の生命維持には、正常な染色体の分配が必須である。そのためには両極から伸びた紡錘体微小管が染色体のセントロメア領域に形成されるキネトコアと結合して染色体を整列させ、各娘細胞へ染色体を分配しなければならない。キネトコアは100種類を超えるタンパク質が複雑なネットワークを形成し、正常な染色体分配に貢献している。100種類を超えるタンパク質が存在するために、いくつかの機能はリダンダントであり、一つの機能が失われてもそれを相補するような機能が働く。これは、正常な染色体の分配のためには重要であるが、単純な機能喪失実験では解明されないような複雑な分子機構が存在していることも示唆している。

この困難さを打破するために、Miao氏は、キネトコアタンパク質の一つであるCENP-Cが微小管結合タンパク質と結合しないような変異体を活用した。このCENP-Cの変異体は、一部のキネトコア機能が低下しているものの、他のネットワークによって低下した機能が相補されていると考えられる。Miao氏は、CENP-C変異体と野生型のヒトK562細胞を対象に全ゲノムCRISPRスクリーニングを行い、遺伝子破壊によって野生型細胞の生育には影響はないが、CENP-C変異体細胞では死んでしまうような遺伝子の同定を試みた。その結果、複数の遺伝子を同定できたが、この論文ではKIF18Aの遺伝子に注目した。詳細な解析から、KIF18Aは染色体の整列に関与することが明らかになった。CENP-C変異体ではKIF18Aの機能阻害で染色体の整列が起きないが、なぜ起きないかを解析した結果、CENP-C変異体では、染色体の整列に関与するCENP-Eのレベルが低下していることが明らかになった。つまり、正常細胞では、KIF18AとCENP-Eの２つが染色体の整列に関与しおり、どちらか一方の機能低下では、片方の機能によって染色体の整列が起こることが判明した。すなわち、染色体の整列には、KIF18AとCENP-Eの２つの機構が平行に働いていることが判明した。

また、KIF18Aは抗がん剤のターゲットとして知られているが、KIF18Aの機能阻害で死ぬ細胞と死なない細胞があることが明らかになった。そこでKIF18Aの機能阻害で死ぬ細胞のCENP-Eレベルを調べると、全ての細胞でCENP-E レベルが低下していることが判明した。これらの結果から、CENP-Eの低下は、KIF18Aの阻害で感受性を示す細胞の有用なマーカーになることも併せて示せた。本論文は、複数の新規の知見を含んでいるため、著者のMiao氏は、博士の学位を授与するのに値するものと認められた。なお、本論文は、チェックツール“iThenticate 2.0”を使用し、剽窃、引用漏れ、二重投稿等のチェックを終えていることを申し添える。