OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The regulatory mechanisms and functional roles of the CENP-T-KMN network interaction for faithful chromosome segregation
Author(s)	竹之下, 憂祐
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/82336
rights	Reproduced with permission from Springer Nature
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　（　竹之下　憂祐　）	
論文題名	The regulatory mechanisms and functional roles of the CENP-T-KMN network interaction for faithful chromosome segregation （正確な染色体分配におけるCENP-TとKMNネットワークとの結合制御機構とその機能的役割の解明）

論文内容の要旨

Preservation of genomic integrity is essential for the normal development and tissue homeostasis in all organisms. To transmit genetic materials to daughter cells from parental cells, the kinetochore, a large protein complex that assembles on a specialized chromosome region termed the centromere, connects each sister chromatid to spindle microtubules during the process of chromosome segregation. CENP-T and CENP-C, kinetochore components, localize to the centromere throughout the cell cycle and recruit the microtubule-binding complex named the KMN (the Knl1 complex (Knl1C), the Mis12C, and the Ndc80C) network during mitosis, independently (the CENP-T pathway and the CENP-C pathway, respectively). A previous study has shown that the CENP-T pathway is essential for cell viability, while the CENP-C pathway is dispensable in chicken DT40 cells. The next questions to be addressed are how the CENP-T-KMN network interaction is regulated and what is the role of its interaction for faithful chromosome segregation.

First, I addressed the regulatory mechanisms of the CENP-T-KMN network interaction using the chicken DT40 cell lines that lack the CENP-C-KMN network interaction. Chicken CENP-T binds to two copies of the Ndc80C which binds to spindle microtubules directly: one directly and the other through the Mis12C. I showed that the CENP-T-Ndc80C direct interaction was regulated by CDK1 phosphorylation at the native kinetochores, which is consistent with previous *in vitro* and *in vivo* (artificial tethered kinetochores at the non-centromere region) studies. Furthermore, I elucidated that direct interaction of the Ndc80C with the CENP-T facilitates the CENP-T－Mis12 interaction. Next, I demonstrated that the Mis12C has two critical roles for accurate chromosome segregation. One is the recruitment of the Knl1C to the kinetochores. The Mis12C regulates the enrichment of phosphorylated histone H3 at Thr3 and Aurora B at the inner centromeres through the recruitment of the Knl1C. The other is the recruitment of additional copies of the Ndc80C to the kinetochores to ensure the stable kinetochore-microtubules interaction. These results suggest that each CENP-T-KMN network interaction has critical roles for faithful chromosome segregation.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（竹之下　憂祐）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者		
主 査	教授	深川　竜郎
副 査	教授	平岡　泰
副 査	教授	佐々木　洋
副 査	准教授	岡本　浩二

論文審査の結果の要旨

正常な染色体の分配には、染色体のセントロメア領域に形成されるキネトコアと呼ばれるタンパク質複合体が、紡錘体微小管と結合して染色体を娘細胞まで牽引することが必要である。機能的なキネトコアが形成される分子機構を解明することは、極めて重要である。キネトコア構成タンパク質のCENP-Tは、セントロメアDNAと紡錘体微小管結合タンパク質の両方に結合するために、キネトコア形成の鍵因子である。しかし、CENP-Tやそれに結合する紡錘体微小管結合タンパク質複合体の機能や役割の詳細については不明な点も多い。竹之下憂祐氏は、ニワトリDT40細胞を活用して、多様な遺伝学的手法を駆使して、正常なキネトコア形成には、CENP-T 1 コピーに対して2コピーの紡錘体微小管結合タンパク質複合体であるNdc80複合体が必要であることを証明した。さらに、2コピーのNdc80複合体のリクルートに加えて、CENP-TがMis12と呼ばれる複合体をリクルートし、それを介して姉妹染色分体の接着に関与していること示した。これらの結果は、これまで不明であったCENP-Tを介したキネトコア形成機構を明らかにした新規の知見である。よって、本論文は、博士の学位を授与するに値するものと認められる。