OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Structure Basis of CENP-A Nucleosome Recognition of Chicken KNL2
Author(s)	Jiang, Honghui
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/93003
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

Form 3

Abstract of Thesis

Name (江 泓慧)	
Title	Structure Basis of CENP-A Nucleosome Recognition of Chicken KNL2 (KNL2 による CENP-A ヌクレオソーム認識の分子構造基盤)

Abstract of Thesis

Centromere protein-A (CENP-A), a histone H3 variant, is an important epigenetic mark for centromere specification. For new CENP-A deposition, chicken KINETOCHORE NULL2 (ggKNL2), a component of the licensing factor Mis18 complex, binds directly to CENP-A-containing nucleosome via CENP-C-like motif to recruit the CENP-A chaperone Holliday junction recognition protein (HJURP) to the centromere chromatin and ultimately forming a new CENP-A nucleosome. However, the molecular basis of how the CENP-A nucleosome is recognized by ggKNL2 remains unclear. To address this question, I performed biochemical and structural biological analyses on the CENP-A nucleosome in complex with ggKNL2. To understand the centromere binding mode of KNL2 to the CENP-A nucleosome, the cryo-EM structure of the chicken CENP-A nucleosome in complex with a ggKNL2 fragment containing the CENP-C-like motif was determined. This structure suggests that ggKNL2 distinguishes between CENP-A and histone H3 in the nucleosome using the CENP-C-like motif and its downstream region. Both the C-terminal tail and the RG-loop of the CENP-A nucleosome are simultaneously recognized as CENP-A characteristics by ggKNL2. Based on the structural findings, the mutational analysis was performed using chicken DT40 cells and demonstrated that the interaction of KNL2 with the CENP-A nucleosome is critical for new CENP-A incorporation and cell viability. The CENP-A nucleosome-ggKNL2 interaction is thus essential for KNL2 functions. It is notable that KNL2 shares the CENP-A binding mode with CENP-C, which is a kinetochore component. Furthermore, the structural, biochemical, and cell biology data implied the cell cycle dependent regulation of centromere localization of ggKNL2. ggKNL2 directly binds to the CENP-A nucleosome in interphase, while in mitosis ggKNL2 localizes to centromere depend on CENP-C.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　江　泓慧　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教 授	深川 竜郎
	副 査　教 授	上田 昌宏
	副 査　教 授	廣瀬 哲郎
	副 査　准教授	岡本 浩二

論文審査の結果の要旨

生物が生命を維持するためには、染色体分配は必須のイベントである。その際に、紡錘体微小管が染色体の特殊領域を捉え、次世代細胞へ伝える必要がある。この染色体の特殊領域はセントロメアと呼ばれる。興味深いことに、セントロメア領域はDNA配列では規定されずに、その領域にCENP-Aという特異的なヒストンが入ることが知られている。したがって、CENP-Aがどのようにセントロメア領域に取り込まれるかを理解することは、極めて重要である。そのメカニズムとして、CENP-Aと結合するKNL2タンパク質がセントロメアの目印となり、新しいCENP-Aが取り込まれることが知られている。しかしながら、KNL2がどのようにCENP-Aと結合するかは明らかでない。江泓慧さんは、KNL2を精製し、CENP-Aを含むヌクレオソームを再構成した後にCryo-EMでその構造を決定して、結合の分子基盤を明らかにした。また、その基盤に変異を入れたタンパク質を生化学的、細胞生物学に解析し、その正しさを証明した。これは、セントロメア研究分野における重要な知見であり、博士の学位を授与するに値するものと認められる。

なお、学位論文をチェックツール“iThenticate”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ます。