

2012年7月17日

報道関係者各位

公益財団法人 がん研究会

## 細胞分裂を制御するセパレーズ活性の可視化に成功

～ がんの細胞分裂異常に着目した、新たな治療法につながる成果～

がん研究会の広田亨がん研究所実験病理部長らの研究グループは、染色体分離を遂行する酵素「セパレーズ」が持つ酵素活性の可視化に成功しました。これは、がんの細胞分裂異常を解明することを可能にし、さらには、新たながん治療法の開発につながる成果です。

細胞分裂の正常な進行過程に重要な染色体分離は、セパレーズが、染色体を接着しているタンパク質複合体（コヒーシン）を切断することによって開始されますが、セパレーズが活性化される機構は長らく明らかにされていませんでした。広田部長らは、このセパレーズの活性を計測するセパレーズ・センサー（基質ペプチドと蛍光タンパク質融合体）を開発し、細胞が分裂する際に、いつ・どこでセパレーズが活性化するのかを可視化して、その機構を世界で初めて明らかにしました。このセンサーを用いた解析により、セパレーズは、コヒーシンを切断後、細胞分裂を進行させるサイクリン依存性キナーゼ（Cdk1）を抑制するという機能を発揮し、分離した染色体をさらに引き離して、細胞分裂プロセスを促進するという作用も見出しました。

すなわち、染色体分離の遂行において極めて重要な役割を担っている鍵酵素であるセパレーズの活性を可視化し、その絶妙な作用機序を明らかにすることに成功しました。

この研究成果は、染色体不安定性というがん細胞の本質的な性質の解明に大きく貢献するばかりではなく、がんの細胞分裂異常に着目した、全く新しいタイプの抗がん薬の研究開発を可能にするものです。セパレーズを分子標的とした抗がん薬は世界でもまだ開発されておらず、新たな分子標的がん治療薬の創製が期待されます。

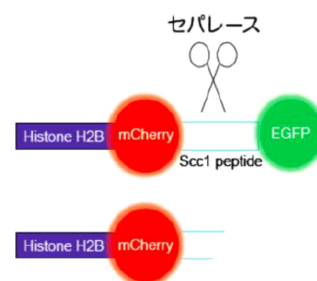
この研究成果は既に特許出願され、2012年7月16日（米国時間）に米国科学誌「Developmental Cell」に掲載されました。

### 【研究の背景と目的】

多くのがん細胞には、細胞分裂の度に染色体数が変動する「染色体不安定性」と呼ばれる性質があり、この染色体不安定性は、がん細胞の転移や浸潤を促進し、がんの悪性化など、がんの病態に直接関与していると考えられています。細胞が正常に分裂する際には、分裂期の後期に、姉妹染色分体が「一斉に同期して」分離することが必要ですが、この染色体分離の「同期性」の意義は未解明のままでした。本研究では、姉妹染色分体の結合の解除を促進する酵素「セパレーズ」の活性化機構の中で、特に瞬間的に起こる染色体分離を可能にしているメカニズムを解明することを目的としました。

### 【研究方法】

分裂しようとする生きた細胞でセパレーズ活性を可視化するために「セパレーズ・センサー」を、次のように開発しました：セパレーズによる切断配列を含むペプチドの両端に、緑色蛍光体（GFP）および赤色蛍光体（mCherry）を付加した融合体を作成し、これにヒストン H2B（または CENP-B）を融合し、このプローブを染色体全般（またはセントロメア）に配置しました（右図）。染色体は「黄（赤 + 緑）」に光りますが、セパレーズが活性化してペプチドが切断されると、緑色蛍光体が遊離するため、黄色は「赤」へと変化する仕掛けにより、セパレーズの作用が可視化できます。

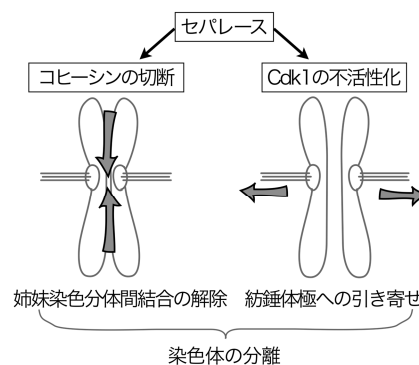


### 【研究成果】

セパレーズ・センサーを用いた解析の結果、セパレーズ活性化のプロファイルを得ることに成功しました。セパレーズの活性化は、セパレーズ抑制因子であるセキュリンにより制御され、セパレーズとセキュリンは段階的にバランスが変わると予想されていましたが、セパレーズの活性は、セキュリンが減少する分裂中期中には活性が抑制されており、染色体の分離が起こる直前（約90秒前）になって、急峻に活性化することが判明しました。さらに、その活性化は細胞内の染色体領域に限定して生じました。すなわち、セパレーズは、その活性が必要とされる染色体上で極めて短期間のうちに活性化され、姉妹染色分体間のコヒーシを一気に切断するという、非常にダイナミックな作用を有することが明らかとなったのです。

さらにセパレーズは、細胞分裂を進めてきたサイクリン依存性キナーゼ（Cdk1）活性を抑制し、分離した姉妹染色分体を紡錘体極へ引き離す運動を促進し、染色体分離を確実に遂行させる働きをも担うことを見出しました。

このように、セパレーズは、コヒーシンの切断と姉妹染色分体の引き離しという2つのプロセスのコントロールを担っており、安定した染色体分配を保障する極めて重要な酵素であることが明らかになりました。



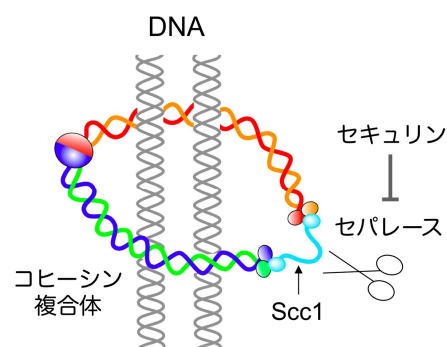
### 【本成果の意義と今後の展開】

細胞分裂に伴って正常に染色体が分離されることは、生命体の恒常性維持の基本であり、その破綻による染色体不安定性の獲得はがんの細胞病態そのものです。今回の解析で見出された、姉妹染色分体の「結合の解除」と、引き続く「紡錘体極への引き離し」の同期プロセスがセパレーズによって絶妙に制御されているという結果は、細胞分裂のメカニズム解明の大きな進歩であるだけでなく、セパレーズの機能低下による染色体不安定性が、細胞のがん化など、がん発症の本質的な理解につながると期待できます。

従来は生化学的手法で計測されていたセパレーズ活性ですが、本成果によって、一つの細胞のレベルで可視的に定量することが可能となり、「セパレーズ・センサー」による細胞分裂機能解析システムの開発と、それ用いた抗がん薬の簡便なスクリーニングなどにも道が拓かれました。現在のところ、セパレーズを分子標的とした抗がん薬は開発されておらず、この「セパレーズ・センサー」を用いた新たな抗がん薬の探索は大いに期待されます。

### 【概念説明図（右図参照）】

細胞分裂時に、染色体（DNA 二本鎖）のペアをつなぎ止めておく「糊」の役割をもつ「コヒーシン複合体」の Scc1 タンパク質部分を、タンパク質分解酵素であるセパレーズが切断して、染色体ペアを分離するように働く。



### 【発表雑誌】

雑誌名：Developmental Cell

論文名：Separase Sensor Reveals Dual Roles for Separase Coordinating Cohesin Cleavage and Cdk1 Inhibition

掲載号：2012年7月号

### 【知的財産権】

2012年7月特許出願済

本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送付させていただいております。

### 【本研究に関するお問い合わせ先】

がん研究会 がん研究所 実験病理部 広田 亨

〒135-8550 東京都江東区有明3-8-31 TEL：03-3570-0446

### 【取材に関するお問い合わせ先】

がん研究会 広報部 本山有里

〒135-8550 東京都江東区有明3-8-31 TEL: 03-3570-0397