

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		分裂期染色体たんぱく質における翻訳後修飾の網羅的解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Proteomics analysis of post-translational modification on mitotic chromosomes			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)オオタ	名)シンヤ	研究期間 B	2015 ~ 2016 年
	漢字 CB	太田	信哉	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	OHTA	SHINYA	研究機関名	高知大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		高知大学教育研究部医療学系基礎医学部門先端医療学推進センター・特任助教			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>タンパク質の翻訳後修飾(P_{TM}: <u>Post-Transcriptional Modification</u>)は、染色体構造や動態制御に重要な役割を果たしている。これまでに、分裂期染色体のタンパク質組成とその制御の一端を、ニワトリ DT40 細胞から単離した分裂期染色体プロテオームを決定することを通じて明らかにしてきた。本研究では、単離した分裂期染色体タンパク質に含まれるリン酸化ペプチドを、HAMMOC(Hydroxy Acid-Modified Metal Oxide Chromatography)により選択的に濃縮し、質量分析で同定することにより、分裂期進行のタイミングに重要な役割を果たす、分裂期染色体タンパク質におけるリン酸化修飾の網羅的解析を行った。結果、単離した分裂期染色体のタンパク質から 4,274 部位のリン酸化サイトを同定した。例えば、その一部として分裂期に染色体に結合する染色体パッセンジャー複合体 (INCENP, AuroraB, Borealin, と Survivin) 上の 29カ所のリン酸化サイトを決定した。また、この技術に SILAC(<u>S</u>table <u>I</u>sotope <u>L</u>abeling with <u>A</u>mino acids in <u>C</u>ell culture)を基盤とした定量法を組み合わせることで、分裂期と間期の染色体におけるリン酸化変化を定量的に調べることを試みた。結果、350 の非常に強い分裂期特異的リン酸化サイトと 25 の分裂期特異的脱リン酸化サイトを決定することができた。特に、セントロメアや染色体分配に関連するタンパク質の分裂期特異的リン酸化と DNA 複製や DNA 修復に関与するタンパク質の分裂期特異的脱リン酸化が顕著に見出された。それぞれのリン酸化サイト周辺には特徴的なアミノ酸配列モチーフが検出され、その責任キナーゼの予測もおこなった。実際に予測された責任キナーゼによる分裂期特異的なリン酸化の確認と、分裂期におけるそのリン酸化の分子メカニズム上の役割については、今後解析していく予定である。</p>					
キーワード FA	分裂期	染色体	プロテオーム	翻訳後修飾	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Identification of mitosis-specific phosphorylation in mitotic chromosome-associated proteins							
	著者名 ^{GA}	太田 信哉 他4名	雑誌名 ^{GC}	Journal of Proteome Research					
	ページ ^{GF}	3331~3341	発行年 ^{GE}	2	0	1	6	巻号 ^{GD}	15
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

During mitosis, phosphorylation of chromosome-associated proteins is a key regulatory mechanism of chromosomal structure and dynamics, and mitosis progression. Mass spectrometry has been successfully applied to determine complete protein composition in mitotic chromosomes, but did not address post-translational modifications. Here, I analyzed the phosphoproteome of isolated mitotic chromosomes and quantitatively compared it with that of chromosomes in non-synchronized cells. I identified 4,274 total phosphorylation sites, 109 SILAC-based relative mitosis-specific phosphorylation sites, and 25 dephosphorylation sites in chromosome-associated proteins. Significant mitosis-specific phosphorylation in centromere/kinetochore proteins was detected, although chromosomal association of these proteins did not change through the cell cycle. These data suggest that the phosphorylation of chromosomal proteins may be a key regulatory mechanism in mitosis. Further computational analysis revealed strong dependency of phosphorylation dynamics on kinase consensus patterns, thus linking the identified phosphorylation sites to known key mitotic kinases. Remarkably, chromosomal axial proteins such as condensin subunits, TopoII, and Kif4A, and a chromosomal periphery protein Ki-67, involved in the establishment of the mitotic chromosomal structure, demonstrated high levels of phosphorylation during mitosis. These findings revealed a novel mechanism regulating chromosome restructuring in mitosis via protein phosphorylation. This study generated a large quantitative database on protein phosphorylation in mitotic and non-mitotic chromosomes, thus providing insight into the dynamics of chromatin protein phosphorylation at the mitosis onset.