

京都大学大学院生命科学研究科 研究科長・教授

柳田 充弘

「細胞周期における染色体制御に必須な高次複合体の研究」

1. 研究実施の概要および2. 研究構想は一体となっているので以下にまとめて記述した。

#### われわれの研究課題の基本構想

五年前、本研究を開始する時点でわれわれが考えた研究の概要と基本構想を以下に掲げる。

<研究の背景>：ゲノム維持と染色体伝達は細胞周期制御と深く関わるので、これらは統合して理解されるべきである。DNA 損傷の修復欠損などを原因とするゲノムの不安定化、または細胞周期進行のエラーによる子孫細胞への染色体の不正確な伝達は、がんや多くの先天性疾病を引き起こすことから、染色体制御機構の理解は大きな意義がある。

<研究の目的>本研究では、真核細胞において普遍的に保存される有糸分裂期（M 期）におこる染色体の子孫細胞への分配がいかに空間、時間的に協調して正確に起こるのか、その制御機構を明らかにしたい。そのために、染色体分配を制御している因子としてわれわれの研究室で見いだされた必須分子の研究を推進する。興味深いことにそれぞれが大きな分子複合体のサブユニットとして存在していた。すなわち、細胞周期のステージ特異的にユビキチン依存的なタンパク質分解を誘導する 20S サイクロソーム/APC、タンパク質の脱リン酸化ホロ酵素、染色体分配に必須な Cut1-Cut2（セパリンーセキュリン）複合体、染色体凝縮をおこす SMC 複合体であるコンデンシン、動原体クロマチンと特異的に結合する Mis6 分子集合体、複製および損傷チェックポイントに必須な Cut5-Crb2-Chk1 複合体などであった。これらは、染色体制御ばかりでなくストレス応答や DNA 合成、DNA 損傷、細胞分裂のチェックポイント制御、がん抑制遺伝子機能にもカップルして深く関わっている。これらがなぜ複合体として存在しているのかを明らかにすべく研究を進めたい。

<研究の効果>これらを深くかつ統合的に研究するなら、真核細胞制御に新しい概念と天地をもたらすであろう。また関連した疾病の根本原因の理解が一段と進むであろう。

CREST としての研究成果は既発表の原著論文や総説（末尾にリストを掲げた）以外にも相当なものがあり、これらは順調にいけば 2001 年から 2002 年いっぱい論文として公表されるであろう。しかしそれ以外にも相当量の成果が進行過程の研究として存在しこれらが 2, 3 年後に論文として公表されることは間違いない。このような遅効的な研究成果はいまの段階では明確に述べるわけにはいかないが、それらを含めなくても、われわれの過去 5 年間の研究成果は極めて稔りあるものであった。

#### 中期後期遷移：APC/cyclosome とセキュリンーセパリン複合体

染色体の分配を起動する分裂酵母遺伝子産物 Cut2 タンパク質の分解が分配に必須であり、もしも分解しないと染色体分配が起動しないことを証明した。さらに分解にはポリユビキチン化が必須であり、その機構は破壊ボックスを必要とするが、B 型サイクリンの破

壊ボックスでも代用出来ることを示した。これらの結果は細胞周期と染色体分配のカップリングがサイクリンと Cut2 タンパク質の細胞周期ステージ特異的な分解に依存していることを明解に示した極めて意義深いものである。Cut2 タンパク質という 10 年以上をかけて研究してきたタンパク質が染色体分配の制御において中心的な役割を果たすことがこれで確定した。

Cut2 タンパク質は進化的に保存されて、ヒトにもあり (PTTG という) 現在は総称してセキュリンと呼ばれている。Cut2 が Cut1 タンパク質を複合体を作っていることも証明した。Cut1 と Cut2 の機能的な深い相互関連は 1990 年 Uzawa et al. が示したが、これらの安定な複合体形成もわれわれの研究が最初に示したものであり、Cut1 タンパク質がプロテアーゼであるというその後の発見と結びつき、Cut2 の阻害因子としての生理的意義も別のグループにより試験管内反応として証明された。Cut2 の分解によって Cut1 の活性化が起こり、標的であるコヒーシン複合体サブユニットの一つを分解して、染色体分配の起動が可能となる、これが現在到達しているモデルである。

今日 Cut1 の出芽酵母ホモログである Esp1 が染色体の合着に必須であるコヒーシンサブユニットに対するプロテアーゼ活性があることを証明した F. Uhlmann と K. Nasmyth の見事な研究により、Esp1/Cut1 ホモログは総称してセパレーズと呼ばれている。セキュリン-セパレーズ複合体は分裂酵母においてスピンドルに蓄積しており、そのこととコヒーシンを基質とするとの関係が不明であったが、最近出芽酵母でも複合体が主としてスピンドルにあることが明らかとなりさらに、スピンドルやキネトコアに基質があることも判明し、セキュリン-セパレーズ複合体の細胞周期進行にともなう活性制御は広範な基質を対象に行っていることが判明してきた。

Cut2/セキュリンの分解に必須なポリユビキチン化を行うのが 20S のサイクロソーム/APC 複合体である。これらは現在 12 種のサブユニットからなり、どれが欠けても M 期中期・後期遷移が起こらないことが判明している。20S サイクロソームのアセンブリーはサブユニット Cut4 や Cut9 の欠失下では起こらないが、この時タンパク質キナーゼ PKA を減少させるとアセンブリーが起こることを見いだした。つまり PKA パスウェーがサイクロソームの活性化を通じて細胞周期の M 期中期後期進行を負に制御していることが示した。実際培地中に環状 AMP をいれるとアセンブリーが阻害されることも明らかとなった。しかし PKA がいかなる機構でサイクロソームのアセンブリーに関わるのかはいまだ不明である。

本研究の過程で長らく不明であった Cut8 タンパク質の機能についても重要な進展があった。Cut8 タンパク質は 26S プロテアソーム (ユビキチン化タンパク質を分解する) の細胞内局在を決定する因子であった。cut8 変異体では核内にあるプロテアソームがほとんど失われて、細胞質にいつてしまう。その結果 Cut2/セキュリンとサイクリンの分解が著しく遅延し、染色体の分配異常が起こる。この結果からプロテアソームは Cut8 を介在して、染色体分配の制御にも関わることが明らかとなった。また Cut8 タンパク質はまたプロテアソ

ームの細胞内局在を決定する因子として始めてのものであることで、関心を持たれている。Cut8 タンパク質の分子的な機能は核孔に相互作用してプロテアソームの選択的核内移行を高めることを示唆するデータがある。

### スピンドル装置、スピンドルダイナミクス、核構造関係

当研究室においてかつて、Nda2、Nda3、Cut7 キネシンモーターがスピンドル形成に必須であることを証明して以来、スピンドル形成の研究を重視してずっと続けている。特にキネトコアとスピンドルの相互作用について研究の発展があった。本研究の過程で GFP で標識した動原体 DNA を観察することが米国の Andrew Murray 研との共同研究で可能となった。高感度での顕微鏡観察により、またスピンドル極体やスピンドル微小管の標識を併用することから、生細胞でこれらの構造体の動的な変化を追求できるようになった。その結果、分裂酵母のM期に phase 1 (prophase に相当)、phase 2 (prometaphase-metaphase に相当) と phase 3 (anaphase A と B に相当) の三つの時期が定まった時間で存在することが判明した。そして種々の突然変異体でどの時期に異常があるかを検討した。その結果 *dis1* 変異体では phase1 のみが延長していること、その原因が動原体微小管の異常であることも明らかとなった。特に重要な発見は長らく研究していた Dis1 タンパク質が動原体と結合し、さらに動原体微小管とも結合していることをついに見いだしたことである。Dis1 のキネトコアと動原体微小管先端での働きは大変興味深く、現在これと安定に結合するタンパク質を同定しようとしている。

Cut17 変異は M 期での染色体分配異常のみならず、許容温度で紫外線や DNA 合成阻害剤に超感受性を示すので、DNA 合着因子ではないかと予想したが、実際には異なって、既に部分的に調べられていた Bir1/Pbh1 であった。これはほ乳類の survivin と類似した性質を示し、パッセンジャータンパクのような挙動を示し、aurora キナーゼの局在に必須なことが線虫で示されていた。詳細な *cut17* 変異体の表現型と Cut17/Bir1 タンパク質の局在などを調べた。その結果、Cut17/Bir1 が染色体凝縮、スピンドル伸長そして意外なことに DNA 損傷修復に必須なことが判明した。さらに新規の発見として、興味深いことに、これが M 期でキネトコアに存在するためには染色体の合着が必須であった。染色体の合着を必須とするタンパク質局在はこれが初めての例であろう。

人工染色体分配異常を引き起こす *mis3* 変異体細胞内では、リボソーム RNA 合成系と予想外なことに DNA チェックポイントの異常がおこりまた、細胞成長の開始がおこらなかった。Mis3 タンパク質は RNA 結合タンパク質であり、その分子的機能は関心を持たれるもののまず標的 RNA を発見することが先決であろう。染色体の構築異常と核内の物理的環境の異常の2点で分離された *crml* 変異 (1989 年に公表) がタンパク質の核外排出機能の欠失によることが、西田栄介研究室によって見いだされた。この研究の過程でわれわれの研究グループも実験面でのサポートやリエジェントの提供などで協力し共同研究を行った。

## 動原体の機能複合体

分裂酵母の動原体（キネトコア）のタンパク質遺伝子の変異は染色体分配の正確さと細胞周期過程で分配が起こるタイミングに影響を与える。われわれ自身の申請以前の研究により、分裂酵母の動原体は巨大であること（出芽酵母のそれと比較して）そして、分裂酵母の動原体構造は二つの主たるドメイン、すなわち中央ドメインと外側の反復ドメインからなることを示していた。ちなみに高等生物の動原体でも同様な2ドメイン構造を考える研究者が最近でてきている。M期の前中期になると、動原体部位にキネトコア微小管が結合するようになる。その正確な部位は長らく不明であったが、ごく最近のわれわれの研究により、動原体微小管タンパク質 Dis1 は中央ドメインに局在することが明らかとなった。中央ドメインが絶対的に必須というミニ染色体の安定性の解析の結果とも良く合う。

研究申請の段階では、動原体機能に必須な Mis6 タンパクの理解を押し進めることを課題としたが、その後 Mis12 および CENP-A に類似した Cnp1 を新たに発見し、これらについても著しい研究の進展があった。まず、Mis6 が失われると、姉妹動原体が M 期において正確にスピンドル両極に対峙しなくなり、その結果いわゆる動原体の二方向性が失われるようになる。これを原因として分配の正確さが失われるのではないかと報告した。Mis6 タンパク質は中央ドメインにあり、外側の反復ドメインに全くなかった。動原体の2ドメイン構造が塩基配列やクロマチン構造（球菌 nuclease 消化実験）のみならず、特異的タンパク質の局在としても証明された。興味深いことに Mis6 の細胞周期におけるクロマチンへの作用時期は G1/S 期であった。この意義は今もまだ充分明らかでない。また Mis6 に類似したヒトのホモログの存在も報告した。遺伝研の深川らは最近ニワトリの Mis6 タンパク質を同定してその動原体局在を明確に示した。

次いで、Mis12 が同様に動原体タンパクであり、Mis6 とは独立に機能し、なおかつ動原体の二方向性の確立に必須であることを見出した。Mis12 も Mis6 同様に中央ドメインに局在して、特有のクロマチン構造の形成に必要であった。Mis12 の欠損した変異体細胞では中期のスピンドル長が異常に長くなり、その結果二方向性が失われ、無秩序な染色分体が引き起こされる。細胞周期における作用点は驚いたことに、1周期前の M 期であった。このことの生理的意義もまだ明らかでない。Mis12 は進化的に遠い出芽酵母においてもホモログがあった。さらに極めて最近ヒトにもあることが明らかとなった（五島、未発表）。

出芽酵母のホモログ Mtw1 の配列を出発点として、このタンパク質が出芽酵母でいかに振る舞うかを調べた。まず局在は予想通り動原体 DNA に結合した。しかし局在を調べると驚いたことに最初スピンドル極体と同一と錯覚を感じるほどで、ほとんどの細胞でふたつに分離していた。しかし、既知のスピンドル極体タンパク質である γ チューブリンとは確実に異なるので、極体にはない。どのような状況がおきているのか詳細に調べ、出芽酵母の動原体の挙動について驚愕すべき結論に至った。内容をかいつまんで述べると、出芽酵母の姉妹動原体 DNA は複製直後に分離して（しかし腕部 DNA は合着している）その後もずっと別れたままになっていた。なぜこのような細胞周期進行の早い時期に動原体は分

離してしまったのか、その説明としては動原体 DNA が微小管と早い時期に固定的に結合してそのままM期までその状態で進行すると考えるのが一番わかりやすい。実際動原体よりすこし離れたところにある、腕部の DNA はM期後期まで合着していた。簡単にいえば、腕部の合着が動原体の2方向性を保っているというのが、この例外的に特殊な出芽酵母の動原体の特徴である。

ヒストン H3 に高度に類似した動原体特異的なヒストン Cnp1 タンパクの研究を推進した。出芽酵母の Cse4、ヒトの CENP-A と同様に動原体に局在した。Cnp1 の欠失体及び温度感受性変異体を作ったところ、染色体の異常分配が起こり、その表現型は *mis6*、*mis12* 変異体と酷似していた。これは出芽酵母の *cse4* 変異のチェックポイント停止の表現型とは著しく異なった。また重要な観察として *cnp1* 変異体では、*mis6*、*mis12* 変異体と同様に動原体中央ドメインに特異的なクロマチン構造が失われていた。大変興味深いことに、Cnp1 タンパク質が動原体に局在するためには Mis6 タンパク質の機能が必須であった。しかし、Mis12 は必要でない。Mis6 と Cnp1 は協同して、動原体に特異的なクロマチン高次構築を作るのに働いているのであろう。これらの結果は Science 誌に公表した。CENP-A が動原体特異的なヌクレオソームを形成しても、動原体クロマチンに load されるためには、さらに Mis6 タンパク質が必要である。Mis6 のタンパク質の機能を追求しているが、これが他の動原体タンパク質と複合体を形成していることが明らかとなりつつある。

### DNA チェックポイント複合体

染色体の動態を理解するための一環として、損傷チェックポイントの研究を行ってきた。目的は染色体分配の機構にこのような DNA 損傷チェックポイント制御がかかわるのではないか、という期待があったからである。複製チェックポイントに必須な Cut5 タンパク質と相互作用するタンパク Crb2 を同定した。この Crb2 タンパク質は損傷チェックポイントに必須で、M期において高度にリン酸化されることにより、不活性化するものと考えられる。実際 Cdc2 キナーゼによってリン酸化され、それがチェックポイントを脱出するのに必須であることを最近示すことができた。この Crb2 タンパク質は DNA 依存性キナーゼである Rad3 と直接相互作用し安定な複合体を作ることを示した。さらに Crb2 はチェックポイントキナーゼである、Chk1 とも直接相互作用する。これらの物理的相互作用の生理的意義を明らかにすべく、活性制御などを調べている。Crb2 がチェックポイント停止を維持するために必須であり、しかもそのためには Rad3 との相互作用が必須であると結論できるデータを得ている。

### 染色体凝縮と合着関係複合体

1986年に *cut3*、*cut14* 変異体として分離し、94年には変異体での染色体凝縮に欠損があることを示し遺伝子産物も同定した Cut3、Cut14 タンパク質の複合体の追求をさらに行うことは本研究の中心的課題の一つであった。研究申請時には染色体凝縮には必須な5つの

コンデンシン複合体サブユニットのうち、SMC サブユニットである Cut3、Cut14 のみについての研究が行なわれていた。(SMC とは structural maintenance of chromosome の略で、両端が球状で中央がコイルドコイルで、さらに中央付近にヒンジと呼ばれるドメインのあるタンパクの総称として使われ、コンデンシンやコヒーシンにはファミリーのタンパクが含まれる)。SMC の Cut3-Cut14 ヘテロ 2 量体の複合体が一本鎖 DNA を二重鎖にする強力な再生活性を有することを Nature 誌に報告した。この活性は変異体タンパクでは失われていたので、染色体凝縮に深くかかわる可能性が高い。さらに最近の結果ではコヒーシンの SMC 複合体では、この DNA 再生反応がまったく起きないので、われわれの考えをサポートしている。

部分複合体でなく、完全複合体を純粋にして試験管内での反応を可能にするためにも残りのサブユニットについての研究が重要である。このような観点に立って、残りのサブユニット遺伝子のクローン化とそれらの性状についての解析を行なってきた。コンデンシン 5 量体のうち SMC でない 3 つのサブユニットをそれぞれ、Cnd1、Cnd2、Cnd3 と名付けた。これらはどれも生存に必須で、遺伝子破壊の表現型を詳しく解析するとどれも染色体凝縮に欠陥があった。SMC である Cut3、Cut14 の変異体で見られる凝縮欠損の表現型と非常によく似ていた。この結果は SMC 以外のサブユニットも凝縮に必須であるという、初めての証拠である。次いで、これらのタンパクが、細胞周期を通じて、どのように局在するかの研究を行った。その結果、大変興味深いことに、複合体は Cut3 サブユニットの Cdc2 リン酸化部位のリン酸化に依存して、核に局在することが明らかとなった。それゆえ、リン酸化部位をアラニン変異体にすると、コンデンシンは M 期においても細胞質にとどまり、その結果、染色体凝縮は全く起きない。コンデンシンは、Cdc2 キナーゼが不活性化された後も G1 期終了まで核にとどまり、S 期になると核外に輸送される。現在、コンデンシンについては 5 量体のアセンブリーを各ステップで明確にして、構造生物学的な研究が京大竹安研究室との共同研究で画期的に進行している。またコンデンシンの間期機能、DNA 修復機能やチェックポイントとの関わりも明らかになりつつある。

コンデンシンがいかにして核クロマチンに組み込まれるのか、研究を進める過程でインポーチン  $\alpha$  のホモログである Cut15 がやはり染色体凝縮に必須であることを見出した。

DNA 複製をした後の染色体は、2 本の同一な姉妹染色分体が何らかの形で結合している。我々は、Mis4 が新しい姉妹染色分体の結合タンパク質であることを見出した。温度感受性の変異体では、DNA 複製後に未成熟に染色体は分離してしまう。このタンパク質は進化的に保存されていた。姉妹染色分体をさらによく理解するために、分裂酵母におけるコヒーシン複合体タンパク質を同定し、それらの性質を明らかにする研究を開始した。SMC サブユニットである Psm1、Psm2 の遺伝子をクローン化し、それ以外の Rad21、Psc3 などの研究を開始し興味深い結果を得ている。またヒトの Mis4/アドヘリンタンパク質を同定し、この性質を現在鋭意検討中である。

### 3. 研究実施体制



### 4. ワークショップ・シンポジウム等

年月日	名称	場所	参加人数	概要
1997年 11月24日 ～27日	The 3 <sup>rd</sup> UK/JAPAN Cell Cycle Workshop	コープイン京都 (京都)	345人	細胞周期：その制御とメカニズム
1999年 9月25日 ～30日	第一回国際分裂酵母学会	エジンバラ (スコットランド)	450人 (当研究室より10人の参加者)	3人のオーガナイザーの内、1人が研究代表者・柳田充弘である。本研究分野における初めての研究集会。
2000年 9月23日 ～26日	The 4 <sup>th</sup> UK/JAPAN Cell Cycle Workshop	英国ケンブリッジ大学チャーチルカレッジ	250人	本ワークショップは今回で四回目。オーガナイザーはケンブリッジ大学のラスキー教授、パイン博士それに柳田であった。日本と英国のトップクラスの細胞周期研究者と若手の研究者を中心として大変レベルの高く、そして熱気のある会合を続けている。



## 5. 主な研究成果

(1) 論文発表 (国内誌 2件 国際誌 31件)

### 国内誌

- 石井浩二郎、柳田充弘。プロテインホスファターゼによる細胞周期 M 期制御。蛋白質 核酸 酵素。43 : 987-995 (1998)
- 中世古幸信、柳田充弘。分裂酵母の姉妹染色体分離突然変異体。蛋白質 核酸 酵素。44 : 1703-1710 (1999)

### 国際誌

- Fukuda, M., Asano, S., Nakamura, T., Adachi, M., Yoshida, M., Yanagida, M., Nishida, E. CRM1 is responsible for intracellular transport mediated by the unclear export signal. *Nature*. 390: 308-311 (1997)
- Funabiki, H., Yamano, H., Nagao, K., Tanaka, H., Yasuda, H., Hunt, T., Yanagida, M. Fission yeast Cut2 required for anaphase has two destruction boxes. *The EMBO Journal*. 16: 5977-5987 (1997)
- Nakaseko, Y., Yanagida, M. A telomerase mutant defective in sister chromatid separation at mitosis. *BioEssays*. 19: 557-559 (1997)
- Saitoh, S., Takahashi, K., Yanagida, M. Mis6, a Fission Yeast Inner Centromere Protein, Acts during G1/S and Forms Specialized Chromatin Required for Equal Segregation. *Cell*. 90: 131-143 (1997)
- Saka, Y., Esashi, F., Matsusaka, T., Mochida, S., Yanagida, M. Damage and replication checkpoint control in fission yeast is ensured by interactions of Crb2, a protein with BRCT motif, with Cut5 and Chk1. *Genes & Development*. 11: 3387-3400 (1997)
- Sutani, T., Yanagida, M. DNA renaturation activity of the SMC complex implicated in chromosome condensation. *Nature*. 388: 798-801 (1997)
- Yamada, H., Kumada, K., Yanagida, M. Distinct subunit functions and cell cycle regulated phosphorylation of 20S APC/cyclosome required for anaphase in fission yeast. *Journal of Cell Science*. 110: 1793-1084 (1997)
- Furuya, K., Takahashi, K., Yanagida, M. Faithful anaphase is ensured by Mis4, a sister chromatid cohesion molecule required in S phase and not destroyed in G1 phase. *Genes & Development*. 12: 3408-3418 (1998)
- Kumada, K., Nakamura, T., Nagao, K., Funabiki, H., Nakagawa, T., Yanagida, M. Cut1 is loaded onto the spindle by binding to Cut2 and promotes anaphase spindle movement upon Cut2 proteolysis. *Current Biology*. 8: 633-641 (1998)
- Matsusaka, T., Imamoto, N., Yoneda, Y., Yanagida, M. Mutations in fission yeast Cut15, an importin  $\alpha$  homolog, lead to mitotic progression without chromosome condensation. *Current Biology*. 8: 1031-1034, S1-2 (1998)
- Nabeshima, K., Nakagawa, T., Straight, A. F., Murray, A., Chikashige, Y., Yamashita, Y. M., Hiraoka, Y., Yanagida, M. Dynamics of Centromeres during Metaphase-Anaphase Transition in Fission Yeast: Dis1 Is Implicated in Force Balance in Metaphase Bipolar Spindle. *Molecular Biology of the Cell*. 9: 3211-3225 (1998)

- Yanagida, M. Fission yeast cut mutations revisited: control of anaphase. *Trends in Cell Biology*. 8: 144-149 (1998)
- Esashi, F., Yanagida, M. Cdc2 Phosphorylation of Crb2 Is Required for Reestablishing Cell Cycle Progression after the Damage Checkpoint. *Molecular Cell*. 4: 167-174 (1999)
- Goshima, G., Saitoh, S., Yanagida, M. Proper metaphase spindle length is determined by centromere proteins Mis12 and Mis6 required for faithful chromosome segregation. *Genes & Development*. 13: 1664-1677 (1999)
- Sutani, T., Yuasa, T., Tomonaga, T., Dohmae, N., Takio, K., Yanagida, M. Fission yeast condensin complex: essential roles of non-SMC subunits for condensation and Cdc2 phosphorylation of Cut3/SMC4. *Genes & Development*. 13: 2271-2283 (1999)
- Watanabe, M., Fukuda, M., Yoshida, M., Yanagida, M., Nishida, E. Involvement of CRM1, a nuclear export receptor, in mRNA export in mammalian cells and fission yeast. *Genes to Cells*. 4: 291-297 (1999)
- Yamashita, Y. M., Nakaseko, Y., Kumada, K., Nakagawa, T., Yanagida, M. Fission yeast APC/cyclosome subunits, Cut20/Apc4 and Cut23/Apc8, in regulating metaphase-anaphase progression and cellular stress responses. *Genes to Cells*. 4: 445-463 (1999)
- Yanagida, M., Yamashita, Y.M., Tatebe, H., Ishii, K., Kumada, K. Nakaseko, Y. Control of metaphase-anaphase progression by proteolysis: cyclosome function regulated by the protein kinase A pathway, ubiquitination and localization. *Philosophical Transactions of the Royal Society*. 354: 1559-1570 (1999)
- Yanagida, M. From Phage to Chromosome Biology: A Personal Account. *J. Mol. Biol.* 293: 181-185 (1999)
- Yanagida, M. Cell cycle mechanisms of sister chromatid separation; roles of Cut1/separin and Cut2/securin. *Genes to Cells*. 5: 1-8 (2000)
- Goshima, G., Yanagida, M. Establishing Biorientation Occurs with Precocious Separation of the Sister Kinetochores, but Not the Arms, in the Early Spindle of Budding Yeast. *Cell*. 100: 619-633 (2000)
- Takahashi, K., Chen, E.S., Yanagida, M. Requirement of Mis6 Centromere Connector for Localizing a CENP-A-Like Protein in Fission Yeast. *Science*. 288: 2215-2219 (2000)
- Takahashi, K., Yanagida, M. Replication Meets Cohesion. *Science*. 289: 735-736 (2000)
- Kondoh, H., Yuasa, T., Yanagida, M. Mis3 with a conserved RNA binding motif is essential for ribosome biogenesis and implicated in the start of cell growth and S phase checkpoint. *Genes to Cells*. 5: 525-541 (2000)
- Tatebe, H., Yanagida, M. Cut8, essential for anaphase, controls localization of 26S proteasome, facilitating destruction of cyclin and Cut2. *Current Biology*. 10: 1329-1338 (2000)
- Tomonaga, T., Nagao, K., Kawasaki, Y., Furuya, K., Murakami, A., Morishita, J., Yuasa, T., Sutani, T., Kearsley, S.E., Uhlmann, F., Nasmyth, K., Yanagida, M. Characterization of fission yeast cohesin: essential anaphase proteolysis of Rad21 phosphorylated in the S phase. *Genes & Development*. 14: 2757-2770 (2000)
- Tatebe, H., Goshima, G., Takeda, K., Nakagawa, T., Kinoshita, K., Yanagida, M. Fission yeast living mitosis visualized by GFP-tagged gene products. *Micron*. 32: 67-74 (2001)
- Nakaseko, Y., Goshima, G., Morishita, J., Yanagida, M. M phase-specific kinetochore proteins

- in fission yeast: Microtubule-associating Dis1 and Mtc1 display rapid separation and segregation during anaphase. *Current Biology*. 11: 537-549 (2001)
- Goshima, G., Yanagida, M. Time course analysis of precocious separation of sister centromeres in budding yeast: continuously separated or frequently reassociated? *Genes to Cells*. 6: 765-773 (2001)
  - Morishita, J., Yanagida, M. Bir1/Cut17 moving from chromosome to spindle upon the loss of cohesion is required for condensation, spindle elongation and repair. *Genes to Cells*. 6: 743-763 (2001)
  - Toyoda, Y., Furuya, K., Goshima, G., Nagao, K., Takahashi, K., Yanagida, M., Requirement of Chromatid Cohesion Proteins Rad21/Scc1 and Mis4/Scc2 for Normal Spindle-Kinetochore Interaction in Fission Yeast. *Current Biology*. 12, 347-358 (2002)

(2) 特許出願

なし

(3) 受賞等

① 受賞

2000年 東レ科学技術賞受賞

2001年 朝日賞受賞

2002年 上原賞受賞

② プレス発表

日時：平成12年6月22日11時～

場所：科学技術庁 記者クラブ

主催：科学技術振興事業団 基礎研究推進部

内容：Science (2000年288号2215-2219ページ) 掲載の論文

「Requirement of Mis6 Centromere Connector for Localizing a CENP-A-Like Protein in Fission Yeast. *Science*. Takahashi, K., Chen, E. S., Yanagida, M.]

③ 新聞報道

- ・1997年9月5日、朝日新聞、見たい知りたい細胞分裂 DNA 結合タンパク質メカニズムの一端解明へ
- ・1997年9月8日、読売新聞、「DNAをらせんに巻くタンパク質」
- ・1998年8月17日、読売新聞(夕刊)、新刊「生命科学者になるための10か条」
- ・2000年6月23日、北日本新聞「染色体異常タンパク質が防止」
- ・2000年6月23日、中部経済新聞「染色体人工合成に道 京大が酵母の実験で異常防ぐタンパク質確認」
- ・2000年6月23日、京都新聞「正常な染色体分配 カギはタンパク質 ダウン症原因解明に道 京大院生命科学研酵母実験で発見」
- ・2000年6月23日、毎日新聞「染色体均等分配の仕組み解明 関与タンパク質特定 京

大大学院教授発表」

- 2000年6月23日、産業経済新聞「染色体の異常タンパク質がカギ握る 京大発見病気原因の解明期待」
- 2000年6月23日、日刊工業新聞「CENP-A たんぱく質 染色体均等に分配 京大が解明 遺伝病究明など期待」
- 2000年6月23日、東京新聞「染色体異常防ぐタンパク質確認 京大チーム、酵母実験で」
- 2000年6月26日、日経産業新聞「染色体の均等分配 カギ握る物質解明 京大・柳田教授ら」