

## 班員寄稿

### ICEN (間期セントロメア複合体)について

依田欣哉

HeLa 細胞から ICEN を単離・精製しプロテオミクス法を用いた網羅的解析によって 40 種類の ICEN 構成因子を明らかにしました。このデータを得た時にまず「どこまで本物が含まれているだろうか?」と思いました。コンタミを避ける根拠として、ICEN に含まれる DNA のうち 70% が I-型 サテライト配列であったこと。これが ICEN 蛋白の純度を示す拠り所でした。Non-immune IgG に結合する蛋白と相同な蛋白が殆どないこと。CENP-A, -B, -C, -H, hMis6 を含んでいること。このような背景から、DDB1 と BMI1 のセントロメア局在を確認した段階ですべて公表することに、2004 年に投稿いたしました (*Genes Cells*, 9, 105-120)。この論文は DDB1 と BMI1 のセントロメア局在の意味を十分論証できなかったためそれほど本気では受け止められなかった様でした。今年になって、7 種類の ICEN (22, 24, 32, 33, 36, 37, 39) のセントロメア局在と、siRNA 解析によって動原体機能への係わりを明らかにしました (*Genes Cells*, 11, 673-684, 2006, 15 March) (*Genes Cells* 表紙絵及び ICEN List 参照)。僅か後に二つの研究室 (深川 lab, Cleveland lab) から back to back の形で論文が発表されました (Okada et al, *Nat Cell Biol*, 11, 446-457, 23 March; Folts et al, *ibid*, 11, 458-469, 3 April, 2006)。Folts らは CENP-A の COOH 端に TAP-tag を融合し、stable transformant cell を樹立して我々が開発した native-ChIP 法を用いて CENP-A クロマチンの単離・精製を行いました。最終的に 11 種類の新規セントロメア蛋白を同定し CENP-K ~ CENP-U と名付けました。これらのうち 7 種類は我々が既に公表した蛋白と同一でした (ICEN22/CENP-T, 24/U, 32/N, 33/L, 36/O, 37/K, 39/M)。岡田等は Folts 等の命名法に従ったようです。我々は論文を投稿する前に深川と Cleveland に preprint を送り遺伝子の重複及び命名について問い合わせをしたのですが、すでに彼らは投稿したあとでした。

他方今回のこの competition は ICEN 構成因子の機能解明にとって大きな進歩であり、同時に ICEN list の信頼性を大変高めた点で一大進歩であった様に思います。RSF 複合体 (ICEN2-ICEN8 complex) の解析をもう 2 年間続けているのですが、今回 "RSF complex is required for CENP-A chromatin remodeling" とのタイトルで投稿しました。この論文の内容は論文で読んでいただくとして、ICEN 構成因子の中で重要なことは、セントロメアヘテロ

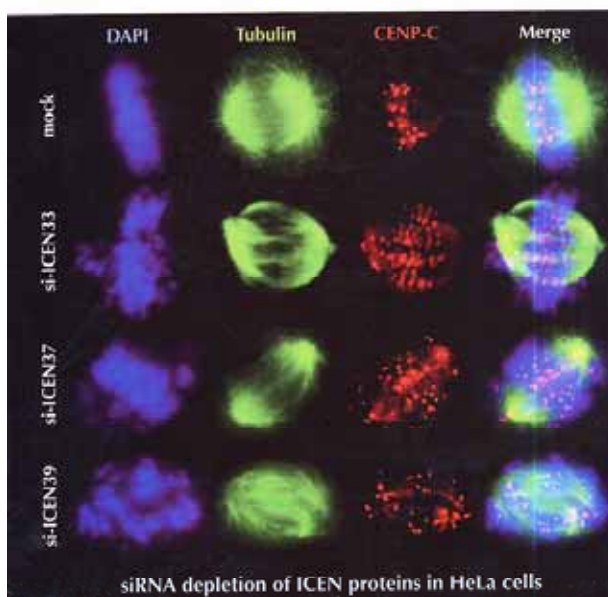
クロマチン形成に関わる因子が 4 あるいは 5 種類 含まれることです。ICEN9/DDB1, ICEN15/cullin4A, ICEN28/HDAC1, ICEN38/HP1 $\gamma$ そして ICEN20/CENP-B もこの中に含まれるものと考えています。

これらはすべて分裂酵母により明らかにされており、Grewal らは Rik1 の構造・機能上のホモログは DDB1/ICEN9 であると提唱しています。我々は既に DDB1 のセントロメア局在を示しています。CENP-A クロマチンを IP するとヘテロクロマチン形成に関わる一連の因子群が共沈するという事は CENP-A クロマチンとヘテロクロマチンが共存していることを強く示唆しています。さらに言うとヘテロクロマチン形成・維持と CENP-A クロマチン形成・維持とは共に極めて動的な出来事であり、競合的であると同時にヘテロクロマチンという環境があって初めて CENP-A クロマチン形成が可能であるのではないかと考えています。このアイディアの優れた点は CENP-A クロマチンのエピジェネティック形成及び領域特異性をとても良く説明する点です。(2006 年 7 月 28 日)

## GENES TO CELLS

Devoted to molecular & cellular mechanisms

Vol 11, No 6, June 2006



ICEN#	Annotation	GENE ID	function	Location,	References
1	KIAA0853	23091			
2	Rsf1= HBXAP-8	51773	ChRMD		
3	KIAA1429	25962			
4	WD 11	55023			
5	KIAA0224= PRP16	9785	RNH		
6	FACT p140	11198	ChRMD		[1]
7	CENP-C	1060	KTF	CEN	
8	hSNF2H	8467	ChRMD		[2]
9	uvDDB-1	1642	HtCh	CEN	[3, 4]
10	ASR2A	51593			
11	HMKLP1 =KNL-5	9493			
12	FACT p80 (SSRP-1)	6749	ChRMD		[1]
13	ZFP91	80829			
14	KIAA0095(NUP93)	9688			
15	cullin-4A	8451	HtCh		[3, 4]
16	FLJ22009	79801			
17	MgcRacGAP	29127	CK		
18	HSPA5	3309			
19	hMis6/CENP-I	2491	KTF	CEN	
20	CENP-B	1059	HtCh	CEN	
21	HSPA8	3312			
22	FLJ13111, CENP-T	80152	KTF	CEN	[5-7]
23	FLJ23109	79872			
24	MLF1IP , CENP-U	79682	KTF	CEN	[5-7]
25	WTAP	9589			
26	RNF1	6015	PRC1		
27	HPC3	57332	PRC1		
28	HDAC-1	3065	HtCh		
29	PHP2	1912	PRC1		
30	BMI1	648	PRC1	CENt	[4]
31	RNF2	6045	PRC1		
32	BM039, CENP-N	55839	KTF	CEN	[5-7]
33	BC007071, CENP-L	91687	KTF	CEN	[5-7]
34	fibrillarin	2091			
35	CENP-H	64946	KTF	CEN	
36	MGC11266, CENP-O	79172	KTF	CEN	[5-7]
37	FKSG14, CENP-K	64105	KTF	CEN	[5-7]
38	HP1 gamma	11335	HtCh		
39	PANE1, CENP-M	79019	KTF	CEN	[5-7]
40	CENP-A	1058	KTF		
	CENP-P			CEN PR11-19J3.3	[5, 7]
	CENP-Q			CEN, FLJ10545	[5, 7]
	CENP-R			CEN, ITGB3BP	[5, 7]
	CENP-S			CEN, IPITD1	[5]

1. Belotserkovskaya, R., et al., *FACT facilitates transcription-dependent nucleosome alteration*. Science, 2003. **301**: p. 1090-1093.
2. Loyola, A., et al., *Functional Analysis of the Subunits of the Chromatin Assembly Factor RSF*. Mol. Cell. Biol., 2003. **23**(19): p. 6759-6768.
3. Jia, S., R. Kobayashi, and S.I.S. Grewal, *Ubiquitin ligase component Cul4 associates with Ctr4 histone methyltransferase to assemble heterochromatin*. Nat. Cell Biol., 2005. **7**(10): p. 1007-1013.
4. Obuse, C., et al., *Proteomics analysis of the centromere complex from HeLa interphase cells: uv-Damaged DNA Binding Protein-1 (DDB-1) is a component of the CEN-complex, while BMI-1 is transiently colocalized with the centromeric region in interphase*. Genes to Cells, 2004. **9**: p. 105-120.

5. Foltz, D.R., et al., *The human CENP-A centromeric nucleosome-associated complex*. Nat. Cell Biol., 2006. **8**: p. 458-69.
6. Izuta, H., et al., *Comprehensive analysis of the ICEN (Interphase Centromere Complex) components enriched in the CENP-A chromatin of human cells*. Genes Cells, 2006. **11**: p. 673-684.
7. Okada, M., et al., *The CENP-H-I complex is required for the efficient incorporation of newly synthesized CENP-A*. Nat. Cell Biol., 2006. **8**(11): p. 446-457.