

平野染色体ダイナミクス研究室

主任研究員 平野 達也 (Ph.D.)

**(0) 研究分野**

分科会: 生物学

キーワード: 染色体、細胞周期、有糸分裂、コンデンシン、SMCタンパク質

(1) 研究背景と研究目標

染色体は、遺伝情報の担体およびその発現の場として働く細胞内構造体であり、あらゆる生命現象の根幹に位置付けられると言っても過言ではない。では、このDNAとタンパク質の巨大な複合体は、どのように構築され、複製され、次世代の細胞に伝達されていくのだろうか？この問題は、がん細胞の増殖および生殖細胞の形成とも密接な関連をもつことから、医学的見地からみてもきわめて重要である。当研究室では、染色体の高次構造変換を制御する分子群、特に我々自身が発見したコンデンシンと呼ばれるタンパク質複合体の解析を中心に、染色体ダイナミクスの総合的理解を目指している。精製タンパク質を用いた生化学・構造学的解析、カエル卵抽出液を用いた再構成系、培養細胞を用いた生体内での染色体動態の解析等、多彩なアプローチを駆使してこの問題に取り組むとともに、染色体ダイナミクスの進化的基盤や染色体異常を伴うヒトの遺伝疾患についても、これまでとは違った視点から研究を推進している。

(2) 研究成果(2022年度)**(A) 組換え型複合体を用いたコンデンシンIとIIの機能解析**

多くの真核生物は、2種類のコンデンシン(コンデンシンIとII)を有する。両者は、それぞれ5つのサブユニットから構成される巨大な複合体である。このうち、2つのSMC(structural maintenance of chromosomes) ATPaseサブユニットは両複合体に共有され、3つの制御サブユニットはそれぞれに固有である。2つのコンデンシン複合体はどのような分子メカニズムを通して分裂期染色体の構築に関与しているのか、その協調的な働きはどのように制御されているのか、という問題についての理解は乏しい。我々は、組換え型のコンデンシン複合体を調整し、カエル卵抽出液に由来する試験管内染色体構築系を用いて、その機能を検定する努力を続けてきた。これまでの解析から、CAP-Hサブユニットのアミノ末端領域(H N-tail)のリン酸化がコンデンシンIの分裂期染色体結合の制御に関わっている証拠を得ていた。2022年度は、野生型コンデンシンIが間期抽出液中では染色体に全く結合できないのに対して、H N-tailを欠失したコンデンシンIは染色体に結合するばかりか分裂期染色体様の構造を形成する能力を有していることがわかった。さらに、この変異型複合体は、(カエル卵抽出液を用いない)二つの試験管内アッセイにおいてもより強いDNA結合能を示した。一方、CAP-D3 D3サブユニットのカルボキシル末端領域(D3 C-tail)のリン酸化がコンデンシンIIの分裂期染色体結合制御に関わっている証拠を得た。これらの結果から、コンデンシンIとIIの間の類似性および相違性が明らかになりつつある。

(B) 一分子解析を用いたコンデンシンIとトポイソメラーゼIIの協調作用の解明

我々はこれまでに、単純な基質(カエル精子核)とわずか6種類の精製タンパク質を混ぜるだけで分裂期染色体を試験管内で再構成できることを示してきた。この6種類の中でATPase活性を有するタンパク質は、コンデンシンIとトポイソメラーゼII(トポII)の2種類のみである。両者がどのように協調して分裂期染色体構築に関わるかを明らかにする目的で、コンデンシンIの一分子ループ押しアッセイに、トポイソメラーゼIIを共存させたときに起こる事象を観察した(京都大学・西山朋子研究室との共同研究)。これまでに示されたように、コンデンシンIのみの反応では、ATPに依存してループ構造の形成が観察された。一方、低濃度のトポIIが共存すると、ループ構造の代わりによりコンパクトな構造(ランプ[lump])が観察された。トポIIのみではDNA構造に全く変化は見られなかった。この予備的な結果は、コンデン

シン I とトポイソメラーゼ II (トポ II) の協調作用を理解する上で大きな手がかりを与えるものである。

(C) 間期染色体構築におけるコンデンシン II とコヒーシンの協調作用の解析

コンデンシン I と II は細胞周期において異なる時空間制御を受けている。例えば分裂終期において、コンデンシン I は形成途上の核から排出されるのに対し、コンデンシン II は核内に留まる。しかし、間期核内におけるコンデンシン II の機能については不明な点が多い。昨年度までの解析から、G1期染色体構造が確立するためには、コンデンシン II からコヒーシンへ適切な「機能継承」が行われることが必須であることがわかった。2022年度は、G2期染色体構造の維持におけるコンデンシン II とコヒーシンの役割を探るため、特定の染色体全体あるいは特定の染色体座位を可視化するための FISH (fluorescence in situ hybridization) 法を開発した。その結果、コヒーシンは局所的なクロマチン構造 (~ 1 Mb scale) の維持に、コンデンシン II は中間的染色体構造 (~20 Mb scale) の維持に、関わっていることが明らかとなった。

(3) 研究室メンバー (2022年度)

(主任研究員)

平野達也

(専任研究員)

小野教夫、木下和久、新富圭史

(特別研究員/協力研究員)

田根将志、香西誠、藤田敏治

(テクニカルスタッフ)

正原由紀、相澤由有希

(アシスタント)

丸山朋子

(研究パートタイマー)

海老原美紀

(4) 発表論文等 (2022年度)

1. Sun M, Amiri H, Tong AB, Shintomi K, Hirano T, Bustamante C, and Heald R. "Monitoring the compaction of single DNA molecules in *Xenopus* egg extract in real time", Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 120:e2221309120 (2023).
2. Tane S, Shintomi K, Kinoshita K, Tsubota Y, Yoshida MM, Nishiyama T, and Hirano T. "Cell cycle-specific loading of condensin I is regulated by the N-terminal tail of its kleisin subunit", eLife 11:e84694 (2022).
3. Yoshida MM, Kinoshita K, Aizawa Y, Tane S, Yamashita D, Shintomi K, and Hirano, T. "Molecular dissection of condensin II-mediated chromosome assembly using in vitro assays", eLife 11:e78984 (2022).
4. Yamazaki H, Takagi M, Kosako H, Hirano T, and Yoshimura SH. "Cell cycle-specific phase separation regulated by protein charge blockiness", Nat. Cell Biol. 24:625-632. (2022).
5. Hirano T. "Condensins: what we know and what we don't know", (Keynote speaker), Biochemical Society Meeting on "Genome organization by SMC complexes" (September 27-30, 2022, Edinburgh, UK).

Laboratory Homepage

https://www.riken.jp/research/labs/chief/chromosome_dyn/index.html

<http://www2.riken.jp/chromdyna/>