

**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よ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(2019年度)****(A) 組換えタンパク質複合体とカエル卵抽出液を組み合わせた解析**

多くの真核生物は、2つの異なるコンデンシン (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) コアサブユニットは両者に共有され、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、カエル卵抽出液を用いた試験管内染色体構築系でその機能を検定する努力を続けてきた。2019年度は、コンデンシン I の3つの制御サブユニットの末端領域に存在する天然変性領域 (intrinsically disordered regions [IDRs]) とそのリン酸化の役割についての解析を進めた。その結果、これらの領域はコンデンシン I のコアとなる活性には必ずしも必須ではないが、それを微調整する働きを有することが明らかとなった。一方、コンデンシン II の解析では、1つの制御サブユニットがコンデンシン II の染色体結合能を負に制御していることがわかった。これらの観察は、コンデンシン I と II という巨大なタンパク質複合体には、内在性の複雑な制御機構が備わっていることを強く示唆した。

**(B) 精製タンパク質を用いた分裂期染色体再構成系の洗練化**

我々はこれまでに、わずか6種類の精製タンパク質 (コアヒストン、3種のヒストンシャペロン、トポイソメラーゼ II、コンデンシン I) とカエル精子核を混合することによって分裂期染色体によく似た構造を試験管内で構築できることを示してきた。この再構成系の確立は染色体構築研究の新たな出発点となったが、技術的にはさらなる洗練化が求められていた。2019年度は、この系におけるトポイソメラーゼ II の働きが反応液のバッファー条件に対してきわめて鋭敏に応答すること、その応答には比較的保存性の低いカルボキシル末端の天然変性領域が関与していること、を見出した。トポイソメラーゼ II がこの領域を通して染色体付近に繫留されることが適切な染色体構築に重要な役割を果たしているらしい。これらの観察は、再構成系のさらなる洗練化に資することに加えて、細胞内環境が染色体構築に与える影響についても大きな示唆を与えるものである。

**(C) 分裂終期から間期への遷移におけるコンデンシン II の機能解析**

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。しかしながら、間期（特に分裂終期からG1期にかけて）のコンデンシン II の機能については不明な点が多い。我々は、コンデンシン II に特異的なサブユニットに **auxin-inducible degran (AID)** 配列を融合させることによって、機能的なコンデンシン II を迅速に分解できるヒト細胞株を確立している。2019年度は、この系を利用して解析を進めた結果、コンデンシン II が分裂終期からG1初期にかけて起こるセントロメアの核内分散に関わっていることを見出した。重要なことに、これはコンデンシン II に特有の機能であり、同じ時期にコンデンシン I を分解してもセントロメアの分散に核内異常は観察されなかった。これらの観察は、間期クロマチンの組織化におけるコンデンシン II 機能を理解する上で大きな手がかりになるものと考えられた。

**(3) 研究室メンバー(2019年度)**

(主任研究員)

平野達也

(専任研究員)

小野教夫、鎌田勝彦、木下和久、

新富圭史

(特別研究員)

田根将志、香西誠

(テクニカルスタッフ)

島昌美、相澤由有希

(アシスタント)

丸山朋子

(研究パートタイマー)

森山聖子、海老原美紀

**(4) 発表論文等(2019年度)**

1. “Molecular dynamics simulations of condensin-mediated mitotic chromosome assembly”, Sakai Y, Hirano T, Tachikawa M. *Methods Mol. Biol.* 2004:319-334 (2019).
2. “Structural basis of HEAT-kleisin interactions in the human condensin I complex”, Hara K, Kinoshita K, Migita T, Murakami K, Shimizu K, Takeuchi K, Hirano T, Hashimoto H. *EMBO Rep.* 20:e47183 (2019).
3. “Condensin-based chromosome organization: new insights from in vitro assays”, Hirano T (Symposium speaker), ASCB | EMBO 2019 meeting (December 9, 2019, Washington DC, USA).
4. “The two faces of condensin I”, Hirano T, EMBO Workshop on “SMC proteins” (September 10, 2019, Vienna, Austria).
5. “Condensin-based chromosome organization: new insights from cell-free extracts”, Hirano T, Gordon Research Conference on "Chromosome Dynamics" (June 27, 2019, Newry, Maine, USA).

Laboratory Homepage

[https://www.riken.jp/research/labs/chief/chromosome\\_dyn/index.html](https://www.riken.jp/research/labs/chief/chromosome_dyn/index.html)

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