

平野染色体ダイナミクス研究室

Chromosome Dynamics Laboratory

主任研究員 平野 達也
HIRANO, Tatsuya

当研究室では、染色体の高次構造変換を制御する分子群、特にコンデンシンとコヒー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す。この目標に向けて、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いる。さらに、染色体ダイナミクスの進化的基盤、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の研究を推進している。これらの成果とゲノム生物学から発せられる膨大な情報を組み合わせることにより、新しい時代の染色体生物学を開拓していく。

1. コンデンシン複合体の構造生物学（平野，鎌田）

コンデンシン複合体は、ATP加水分解酵素モチーフをもつ2種類のSMC (structural maintenance of chromosomes) コアサブユニットと、3種類の制御サブユニット (non-SMCサブユニットと呼ばれる) から成り立っている。non-SMCサブユニットは、SMCサブユニットの分子活性を制御するだけでなく、複合体全体の細胞内局在を決める上でも大きな役割を果たしている。SMCサブユニットの構造と機能についての知見は蓄積しつつあるが、non-SMCサブユニットの構造学的情報は皆無に等しい。本プロジェクトでは、non-SMC 3量体を結晶化しその構造を決めることを目標とする。材料のひとつとして、哺乳類細胞に寄生する微孢子虫 (Encephalitozoon cuniculi) 由来のタンパク質を用いている。この種のゲノムは比較的小さく、遺伝子間のスペーサー領域が短いことが知られている。またコーディング領域も他の真核生物のものに比べて短く、そこにコードされるタンパク質は特にフレキシブルなループ構造部分が短くなっていると予測される。この特徴はタンパク質の結晶化にとって有利にはたらくものと期待できる。そこでこのモデル生物のコンデンシンサブユニットの遺伝子をクローニングし、複数のサブユニットを大量発現することによって、X線結晶構造解析に向けた構造生物学的研究のアプローチを試みている。将来的には、そこで得られる情報をヒトのコンデンシンに還元することにより、この複合体の試験管内および生体内機能の理解を深めていきたい。

2. 分裂期染色体の構造的分化を規定する因子の同定（平野，小野*1）

分裂期に現れる染色体は、クロマチンが均一に凝縮したものではなく、縦軸に沿って高度に分化しサブドメインを有した構造体であることが知られている。こうした構造的分化は、古典的な染色体バンディング法によって可視化することができ、個々の染色体の識別やヒト疾患の染色体異常の検出のために利用されてきた。しかしながら、こうした構造的分化の分子基盤については全く理解されていない。一方、最近の我々の発見によれば、高等真核細胞には異なる機能をもつ2つのコンデンシン複合体が存在し、染色体の構築に対してそれぞれが固有な役割をもっているらしい。また、生化学的・細胞学的解析から、2つのコンデンシンは分裂期以外の染色体機能にも重要な貢献をしていることが示唆されている。そこで我々は、2つのコンデンシン複合体の動態が染色体の構造的分化に寄与しているとの仮説を立て、複合体の局在と古典的な染色体バンディングパターン、DNA塩基組成、DNA複製タイミング、そしてクロマチン修飾パターンとの関連を詳細に検討している。この研究のためには、正常な染色体構成や染色体数 (核型) を維持した細胞と、染色体構築と分離機構に異常をもつ細胞とを比較する必要がある。そこでまず、染色体構築の研究に有効に利用できる細胞株を樹立に力を注いでいる。

*1 訪問研究員

The long-term goal in this laboratory is to understand the molecular basis of chromosome segregation during mitosis and meiosis. Central to this process are two multiprotein complexes, known as condensin and cohesin, that regulate chromosome condensation and cohesion, respectively. The two complexes are structurally related with each other and contain members of a large family of chromosomal ATPases, known as structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins. Mutations in the subunits of condensin and cohesin lead to genome instability in many model organisms, and recent lines of evidence suggest that subtle perturbation of condensin and cohesin functions potentially causes developmental diseases in humans. Our laboratory takes multidisciplinary approaches to understand how condensin, cohesin and SMC proteins might work at a mechanistic level both in vivo and in vitro.

1. Structural biology of the condensin complex

The condensin complex consists of two SMC core subunits and three non-SMC regulatory subunits. The SMC subunits contain ATP-binding cassette (ABC) motifs and function as catalytic subunits of the complex. The non-SMC subunits are known to regulate SMC activities in vitro and to modulate cellular localization of the complex in vivo. Very little is known, however, how these functions might be achieved at a structural level. The goal of this project is to obtain crystal structures of a non-SMC trimer or its subdomains and to determine their atomic structures. We use *Encephalitozoon cuniculi*, a small protozoan that infects various mammalian cells, as a model organism. The genome of this organism is relatively small, containing short intergenic spacers and short coding regions. In many cases, deduced protein sequences appear to lack structurally flexible loop domains, leading us to predict that *E. cuniculi* proteins may, in general, be suitable for crystallization. We have cloned cDNAs encoding condensin subunits from this organism, and are now attempting to establish an overexpression system for X-ray crystallographic analysis.

2. Identification of chromosomal factors that determine the longitudinal differentiation of mitotic chromosomes

Mitotic chromosomes are not uniformly compacted: rather they are highly differentiated along their longitudinal axes. Such a subdomain structure of chromosomes has been well known as classical chromosome banding in the field of cytogenetics. In fact, chromosome banding techniques have been utilized to distinguish between individual chromosomes and to detect structural aberrations that are linked to human diseases. Surprisingly, however, we know almost nothing about the molecular mechanism(s) by which the longitudinal differentiation of chromosomes is established and maintained during the cell cycle. An important clue to this longstanding question in chromosome biology has recently been provided by our discovery that two different condensin complexes (condensin I and condensin II) alternate along the axis in vertebrate chromosomes. Furthermore, our studies suggest that the two complexes display different behaviors during the cell cycle, and may contribute to chromosome functions outside mitosis. In this project, we wish to test and refine the idea that the different distribution and dynamics of condensins I and II might contribute to the longitudinal differentiation of mitotic chromosomes. To this end, we are now attempting to establish several human cell lines with a normal karyotype, and to investigate the relationship between the distribution of condensins and other structural parameters of chromosomes, such as chromosome banding pattern, base composition/GC content, DNA replication timing, and chromatin modifications.

Staff

Head

Dr. Tatsuya HIRANO

Member

Dr. Katsuhiko KAMADA

Visiting Member

Dr. Takao ONO (Institute for Developmental Research, Aichi Human Service Center)