

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(2021年度)**(A) 組換え型複合体を用いたコンデンシンの機能解析**

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いる。2021年度は、コンデンシンIIの機能解析において大きな進展があった。コンデンシンIIが染色体に結合して軸を形成する過程は、CAP-G2サブユニットによって強く負に制御されていることがわかった。また、CAP-D3サブユニットのカルボキシル末端領域 (C-tail) も負の制御に関わっており、両者の機能的クロストークが示唆された。これらの結果から、分子メカニズムと制御の両面において、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) カエル卵抽出液を用いた染色体構築研究のさらなる展開

カエル精子核あるいはマウス精子核をカエル卵抽出液に導入すると、分裂期染色体を試験管内に構築することができる。2021年度は、カエル赤血球から単離した間期核をカエル卵抽出液に導入することにより、この実験系をさらに発展させる試みを開始した。精子核を基質とした場合には、ヌクレオソームの形成と高次の分裂期染色体構築が同時進行するのに対し、赤血球核はすでにヌクレオソーム構造を有しているため、このステップをバイパスして分裂期染色体を構築することができる。その結果として、精子核を基質として用いた場合と赤血球核を基質として用いた場合を比較すると、分裂期染色体構築におけるクロマチンリモデラーの要求性やリンカーヒストンの関与が異なることが分かった。この新たな実験系は、コンデンシン（及びトポイソメラーゼII）とヌクレオソームの機能的クロストークを理解する上で、重要な情報を提供してくれるものと期待できる。

(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、これまでに機能的なコンデンシン II を迅速に分解することのできるヒト細胞株を確立している。この細胞を用いた解析から、コンデンシン II を除去すると分裂終期から G1 初期にかけて起こるセントロメアの核内分散が強く抑制されることが分かっている。2021年度は、コヒーシンを同様な手法で除去してもセントロメアの核内分散が正常に起こることを見出した。しかし、興味深いことに、コンデンシン II とコヒーシンを同時に除去すると、コンデンシン II 単独除去で観察された分散抑制が部分的にレスキューされた。これらの観察は、分裂終期から間期への遷移期において、クロマチンの組織化がどのようにしてコンデンシン II からコヒーシンへと引き継がれるかという問題に大きな示唆を与えてくれる。

(3) 研究室メンバー(2021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(2021年度)

1. “A loop extrusion-independent mechanism contributes to condensin I-mediated chromosome shaping”, Kinoshita K, Tsubota Y, Tane S, Aizawa Y, Sakata R, Takeuchi K, Shintomi K, Nishiyama T, Hirano T. *J. Cell Biol.* 221:e202109016 (2022).
2. “Guiding functions of the C-terminal domain of topoisomerase II α advance mitotic chromosome assembly”, Shintomi K, Hirano T. *Nat Commun.* 12:2917 (2021).
3. “Modality of mitotic chromosomes”, Hirano T, The 44th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (December 2, 2021, Virtual).
4. “DNA topology in mitotic chromosome assembly and shaping”, Hirano T, The EMBO Workshop on “DNA topology in genomic transactions”, (September 20-23, 2021, Virtual).

Laboratory Homepage

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

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