

コンデンシン I と II の分子メカニズムの解明 Molecular mechanisms of condensins I and II

課題番号：18H05276

平野 達也（HIRANO, TATSUYA）

理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員



研究の概要

コンデンシンは、染色体の構築と分離に中心的な役割を果たす巨大なタンパク質複合体である。本研究課題では、生化学と数理モデリングという2つの相補的なアプローチを組み合わせることにより、コンデンシン I と II の共同作業による染色体構築の分子メカニズムの全貌を明らかにする。

研究分野：生化学・細胞生物学・数理生物学

キーワード：染色体・細胞分裂・コンデンシン

1. 研究開始当初の背景

分裂期の染色体構築は、複製した遺伝情報を2つの娘細胞に分配するために必須な準備過程である。我々は、この過程に中心的な役割を果たす2つのタンパク質複合体（コンデンシン I と II）を発見し、その生体内機能および分子メカニズムの研究において世界をリードしてきた。最近では、コンデンシン I を含むわずか6種類の精製タンパク質を用いて染色体様構造を試験管内に再構成することに成功したばかりでなく、ヌクレオソーム形成が起こらない条件下においてもコンデンシンに依存して染色体様構造が構築されうることを示して世界を驚かせた。しかしながら、コンデンシン I と II がどのようなメカニズムを通して染色体を作り上げているかという根本的な問題についての理解は、まだ端緒にいたばかりである。また、両者の細胞周期制御についての理解も乏しい。

2. 研究の目的

本研究の目的は、生化学と数理モデリングという2つの相補的なアプローチを組み合わせることにより、コンデンシン I と II の共同作業による染色体構築の分子メカニズムの全貌を明らかにすることにある。

3. 研究の方法

- (1) カエル卵抽出液を用いた試験管内染色体構築系と組換え型複合体を組み合わせた解析により、コンデンシン I と II の染色体構築における役割分担と両者の協調作用を明らかにする。
- (2) コンデンシン I と II の活性を徹底的に比較することにより、両者の分子メカニズムと制御についての共通点と相違点を明らかにする。
- (3) 数理モデリングとシミュレーションの手法により、コンデンシン I と II の染色体構築における役割分担と両者の協調作用を明らかにする。

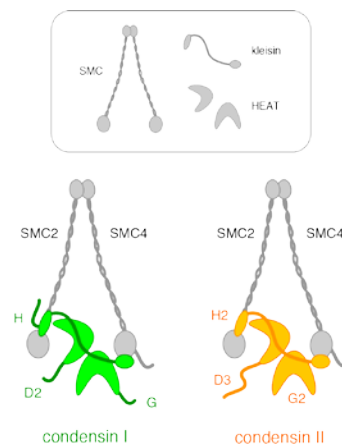


図1. コンデンシン複合体のサブユニット構成

4. これまでの成果

(1) コンデンシン I の機能解析

kleisinサブユニット(H)の中央領域に保存されているモチーフIIIに変異を導入すると、2つのHEATサブユニット(D2とG)の機能的カップリングが大きく乱れることを見出した。また、コンデンシン I とトポソメラーゼ II の機能的相互作用を調べるための新たなアッセイ系を確立するとともに、GとHのサブコンプレックスの結晶構造を明らかにした。

(2) コンデンシン I のリン酸化制御

コンデンシン I の活性化には、Cdk1-cyclin BによるM期特異的なリン酸化が必須であることが知られている。組換え型複合体に非リン酸化型変異を導入することにより、この活性化に重要な部位の1つを同定することに成功した。

(3) コンデンシン II の精製と機能解析

コンデンシン II の精製法を再確立するとともに、野生型およびサブユニット欠失型変異体の機能解析を行った。その結果、一方のHEATサブユニットは、コンデンシン II の染色体結合に対して抑制的に働いており、このサブユニットを欠いてもコンデンシン II は正常な染色体軸構造を形成できるという予想外の結果が得られた。

(4) コンデンシン機能の数理モデリング

コンデンシンにより折り畳まれるときに染色体に蓄積されるエネルギーを、高分子物理モデルを用いて計算した。その結果、クロマチンのループ形成と密度上昇がともに染色体のエネルギー蓄積に寄与することを示した。計算より、この蓄積に打ち勝ってクロマチンループを成長させる駆動力として熱ゆらぎのみでは不十分であり、ATPの加水分解等を介した直接的な力発生の関与が示唆された。

5. 今後の計画

(1) kleisin サブユニット(H)と2つの HEAT サブユニット(D2 と G)の機能的相互作用の理解を深める。

(2) コンデンシンIの活性化に必要なリン酸化制御の全貌を明らかにする。

(3) コンデンシン I と II の機能と制御における共通点と相違点を明らかにする。

(4) コンデンシン I と II を共存させる条件下における解析（生化学および数理モデリング）から、両者の機能的クロストークを理解する。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

発表論文

Sakai, Y., T. Hirano, and M. Tachikawa. (2019). Molecular dynamics simulations of condensin-mediated mitotic chromosome assembly. *Methods Mol. Biol.*, 2004:319-334.

Hara, K. *, K. Kinoshita, T. Migita, K. Murakami, K. Shimizu, K. Takeuchi, T. Hirano*, and H. Hashimoto. (2019). Structural basis of HEAT-kleisin interactions in the human condensin I complex. *EMBO Rep.* Accepted for publication (*co-corresponding authors).

書籍

平野達也・胡桃坂仁志 編（実験医学増刊号）『教科書を書き換える！染色体の新常識』羊土社、2018年。

招待講演

Hirano, T. ASCB | EMBO 2019 Annual Meeting, Washington DC, USA, December 7-11, 2019.

Hirano, T. The EMBO Workshop on “SMC proteins: chromosomal organizers from bacteria to human”, Vienna, Austria, September 10-13, 2019.

Hirano, T. Gordon Research Conference on “Chromosome Dynamics”, Newry, Maine, USA, June 23-28, 2019.

Hirano, T. The 11th 3R&3C Symposium, Kanazawa, Japan, November 12-16, 2018.

Hirano, T. EMBO | EMBL Symposium on “Principles of Chromosome Structure and Function” (Symposium organizer), Heidelberg, Germany, September 5-8, 2018.

受賞

2018年度 朝日賞

7. ホームページ等

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

<https://researchmap.jp/redfrog>