



研究課題名 哺乳類生体リズム振動体の設計

東京大学・大学院医学系研究科・教授

うえだ ひろき
上田 泰己

研究課題番号：18H05270 研究者番号：20373277

キーワード：合成生物学

【研究の背景・目的】

生体リズムは、生命システムの自律制御の基盤を担う。とりわけ概日時計は堅牢な振動体によって駆動される。本研究グループでは、転写翻訳ループが振動体を形成すると信じられていた哺乳類概日振動体について、Casein kinase I (CKI) δ/ϵ の活性が概日時計周期長制御に決定的な役割を果たすこと、さらに驚くべきことに、そのリン酸化活性が温度にほとんど依存しないことを明らかにしてきた。この温度非依存的なリン酸化反応制御機構は、哺乳類概日時計の周期長が温度に依存しないこと、すなわち温度補償性の少なくとも一部を担っている(文献1-2)。従って、哺乳類概日振動体の設計原理の一部は、酵素と基質から構成されるリン酸化反応の制御機構に担われていると考えられる。

タンパク質リン酸化は生体内においては、逆反応を触媒する脱リン酸化反応によって可逆的に制御されている。しかしながら、哺乳類概日振動体において脱リン酸化反応を触媒する分子実体は十分に明らかでない。本研究計画では、哺乳類概日時計制御においてCKI δ/ϵ のリン酸化反応に特異的に拮抗する脱リン酸化反応を担う実体を明らかにすることを目的し、可逆的リン酸化サイクルが実現する振動体としての性質を再構成・設計することを目指す。

【研究の方法】

本研究グループは、CKI δ/ϵ と人工的に設計したペプチドを用いて、哺乳類概日時計の周期長制御および温度補償性に対応したリン酸化反応を試験管内で再構成する実験系を有している。これを用いて、CKI δ/ϵ によるリン酸化反応に拮抗する脱リン酸化反応酵素活性を探索する。さらに、この脱リン酸化酵素活性が、概日時計の位相によってどのように制御されるのかを、CKI δ/ϵ やその基質のリン酸化状態に着目して明らかにする(図1)。

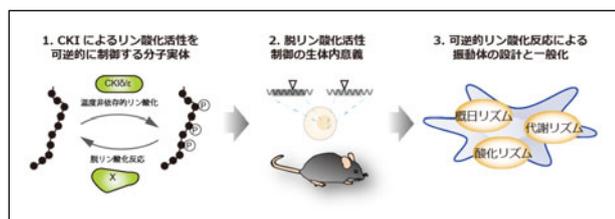


図1 CKI δ/ϵ に拮抗する脱リン酸化反応制御機構の理解と振動体の設計

試験管内実験系で明らかにした脱リン酸化活性やその制御機構に重要なタンパク質および残基の生体内での重要性を、マウス個体における概日時計因子の機能相補系(文献3)を用いて、マウス個体の行動周期長へ与える影響を指標として検証する。

これらの実験から明らかになった脱リン酸化活性制御をCKI δ/ϵ リン酸化反応の試験管内再構成系に加えることで、可逆的リン酸化反応が哺乳類概日時計の振動体としての性質を示すか検討する。さらに、CKIのリン酸化速度温度非依存性が概日時計機能を持たないとされる酵母CKIにも保存されていることを鑑み、哺乳類以外のCKIファミリー・グループについても可逆的リン酸化サイクルの設計を行う。

【期待される成果と意義】

本研究は、これまで広く理解されてきた転写翻訳ループによる哺乳類振動体の設計原理から、可逆的リン酸化による哺乳類振動体の設計原理へのパラダイムシフトを目指すものである。

また、概日時計以外のCKIが関与する生理機能制御について、その制御機構のコアに可逆的リン酸化振動体が存在する可能性を検討することで、概日時計分野を超えた意義と波及効果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Isojima *et al.*, CKI ϵ/δ -dependent phosphorylation is a temperature-insensitive, period-determining process in the mammalian circadian clock. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 15744-15749 (2009)
2. Shinohara *et al.*, Temperature-Sensitive Substrate and Product Binding Underlie Temperature-Compensated Phosphorylation in the Clock. *Mol. Cell*, 67, 783-798 (2017)
3. Ode *et al.*, Knockout-rescue embryonic stem cell-derived mouse reveals circadian-period control by quality and quantity of CRY1. *Mol. Cell*, 65, 176-190 (2017)

【研究期間と研究経費】

平成30年度-34年度
154,100千円

【ホームページ等】

<http://sys-pharm.m.u-tokyo.ac.jp/index.html>



研究課題名 反応場に着目した piRNA 経路の生化学的解析

東京大学・定量生命科学研究所・教授

とまり ゆきひろ
泊 幸秀

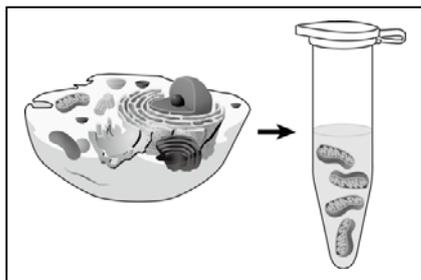
研究課題番号：18H05271 研究者番号：90447368

キーワード：piRNA、小分子RNA、反応場、RNAサイレンシング、PIWI、Argonaute

【研究の背景・目的】

RNA 干渉の発見以来、小分子 RNA が働く分子メカニズムの理解は飛躍的に進んできた。しかし、小分子 RNA の中でも、次世代にゲノム情報を伝える生殖細胞をトランスポゾンから守るという重要な役割を果たす piRNA 経路の理解は大幅に遅れている。その最大の理由は、piRNA の生合成と機能が、細胞内の様々な「反応場」を必要とするため、高速遠心分離によって可溶性画分を調製する一般的な細胞抽出液や、精製したリコンビナントタンパク質を用いた実験では、本来の活性が容易に失われてしまうからである。

そこで本研究では、我々が独自に開発してきた、ミトコンドリア画分を丸ごと用いた試験管内系をさらに発展させ、piRNA が機能する「反応場」を正しい活性のある状態で試験管内に取り出し、piRNA が作られ標的を抑制するまさにその「現場」を生化学的にとらえることによって、未解明のまま残されている「piRNA はどの様に作られ、どの様に働くのか?」という基本的かつ本質的な問いを、分子レベルで正確に追求する。



「反応場」に着目した試験管内系の構築

【研究の方法】

本研究では、未だ解明されていない

1. piRNA 中間体はどの様にして PIWI タンパク質に取り込まれるのか?
2. piRNA 中間体はどの様に成熟化するのか?
3. piRNA に切断された標的 RNA はどの様に次の PIWI タンパク質に受け渡されるのか?

という3つの点に着目し、必要な細胞内の「反応場」をできるだけ壊さない形で丸ごと試験管内に取り出し、反応を忠実に再現することによって、その素過程を生化学的にとらえて詳細に解析する。その際、種々のゲノム編集技術や、次世代シーケンサーによる情報学的解析なども柔軟に組み合わせる。これに

より、piRNA 生合成の分子メカニズムに関する革新的な理解の進展を目指す。

【期待される成果と意義】

RNA が PIWI タンパク質に取り込まれる原理や、piRNA 生合成過程におけるエンドヌクレアーゼ・エクソヌクレアーゼの関係性や必要性、さらには piRNA が標的 RNA を切断しながら増幅する「ピンポンサイクル」の実態などについては、漠然としたモデルの中で分子レベルでの正確な理解が欠如していると言える。このような世界的な研究動向において、本研究は、細胞内の「反応場」に依存するという piRNA 経路の特性を十分に考慮し、これまで積み上げてきた独自の知見やアプローチを活用しながら、piRNA 研究分野が抱える課題を正面から突破しようとするものである。

また、「反応場」に着目した生化学解析系構築のノウハウは、piRNA 経路に限らず、他のノンコーディング RNA や、細胞内の反応場を利用する様々な生物学的経路に適用できる可能性が高く、大きな波及効果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Structural basis for arginine methylation-independent recognition of PIWI1 by TDRD2. Zhang H, Liu K, Izumi N, Huang H, Ding D, Ni Z, Sidhu SS, Chen C, *Tomari Y, *Min J. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Nov 21;114(47):12483-12488.

Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' Trimmer in silkworms. Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y, Honda S, Kirino Y, Suzuki T, Katsuma S, *Tomari Y. *Cell*. 2016 Feb 25;164(5):962-73.

3'-end formation of PIWI-interacting RNAs in vitro. Kawaoka S, Izumi N, *Katsuma S, *Tomari Y. *Mol Cell*. 2011 Sep 16;43(6):1015-22.

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度－34 年度
148,900 千円

【ホームページ等】

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/tomari/>
tomari@iam.u-tokyo.ac.jp



研究課題名 RNA 修飾の変動と生命現象

東京大学・大学院工学系研究科・教授

すずき つとむ
鈴木 勉

研究課題番号： 18H05272 研究者番号：20292782

キーワード： RNA 修飾、mRNA、tRNA、リボソーム、メタボライト

【研究の背景・目的】

RNA は遺伝情報の担い手としてだけでなく、遺伝子発現を転写や翻訳の各段階で制御することで、様々な生命現象に関与することが次第に明らかになりつつある。RNA は転写後に様々な修飾を受けることが知られており、最近ではエピトランスクリプトームと呼ばれ、転写後段階における新しい遺伝子発現制御機構として、生命科学における大きな潮流を生み出している。RNA 修飾がタンパク質のリン酸化修飾のようにダイナミックに変動し、RNA の機能を調節するか、については、多くの議論があるもののきちんとした結論が得られていない。私たちは、細胞が RNA 修飾の基質であるメタボライトの濃度を感知することで、修飾率がダイナミックに変動する現象を捉えた。本研究では、**RNA 修飾の変動と制御**という新しい概念を確立し、エピトランスクリプトーム研究におけるパラダイムシフトを目指す。最終的には RNA 修飾が関与する生命現象および疾患の発症機構を深く理解することが目標である。

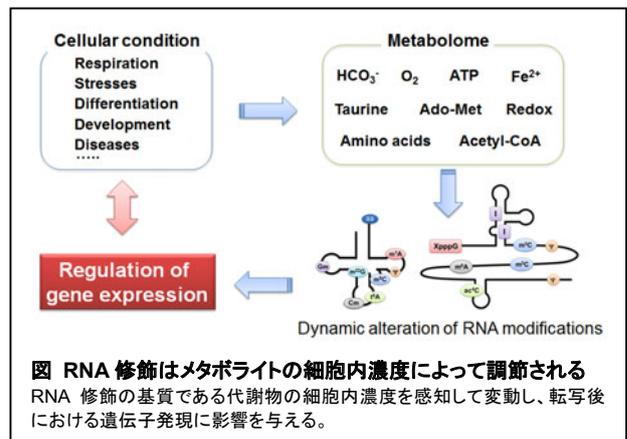
【研究の方法】

細胞に存在する微量な RNA を単離精製し、RNA の高感度分析技術である RNA マススペクトロメトリを駆使することで新規 RNA 修飾の構造決定や修飾部位の同定を行うことで RNA 修飾情報を解析する。特に、RNA 修飾率を定量することで、環境ストレスや栄養状態など、様々な生育条件によりダイナミックに変動する RNA 修飾に着目する。また、新規 RNA 修飾酵素の同定や、RNA 修飾に必要な代謝物を特定し、修飾反応の試験管内再構成を行うことで、修飾形成の分子機構について理解を深める。さらに、RNA 修飾酵素やその関連遺伝子のノックアウト細胞やマウスを作成し、生化学的かつ遺伝学的手法を用いて、RNA 修飾異常に起因する疾患 (RNA 修飾病) の発症機構の研究を行う。

【期待される成果と意義】

生命の発生や細胞の分化など、時空間的に変動する細胞の生育状態や、様々な環境ストレスによって、遺伝子発現が転写過程で、ダイナミックに変動することが知られている。私たちは、転写後における遺伝子発現調節機構として、RNA 修飾の変動に着目している。本研究では、細胞が RNA 修飾の基質となるメタボライトの濃度変化を鋭敏に感知することで、修飾率がダイナミックに変動し、遺伝子発現を制御

するという、これまでにない全く新しい概念 (図) の確立を目指している。特に、細胞の栄養状態や酸素濃度に応じて、変動する RNA 修飾と遺伝子発現調節機構に着目した研究を行う。また、可逆的な RNA 修飾の機能や制御機構について探求する。さらには、RNA 修飾病の探索や発症機構を解明し、将来的な治療法を模索する。



【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Taniguchi et al., Acetate-dependent tRNA acetylation required for decoding fidelity in protein synthesis. *Nature Chem Biol.*, in press (2018)
- Lin et al., CO₂-sensitive tRNA modification associated with human mitochondrial disease. *Nature Commun.*, 14, 9(1):1875 (2018)
- Nagao et al., Hydroxylation of a conserved tRNA modification establishes non-universal genetic code in echinoderm mitochondria. *Nature Struct Mol Biol.*, 24, 778-782 (2017)
- Frye et al., RNA modifications: what have we learned and where are we headed? *Nature Rev Genet.*, 17, 365-372 (2016)

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度 - 34 年度
149,800 千円

【ホームページ等】

<http://rna.chem.t.u-tokyo.ac.jp/>
ts@chembio.t.u-tokyo.ac.jp



研究課題名 視細胞間シナプスがつくる波長対比性の神経行動学的解析

総合研究大学院大学・先導科学研究科・教授

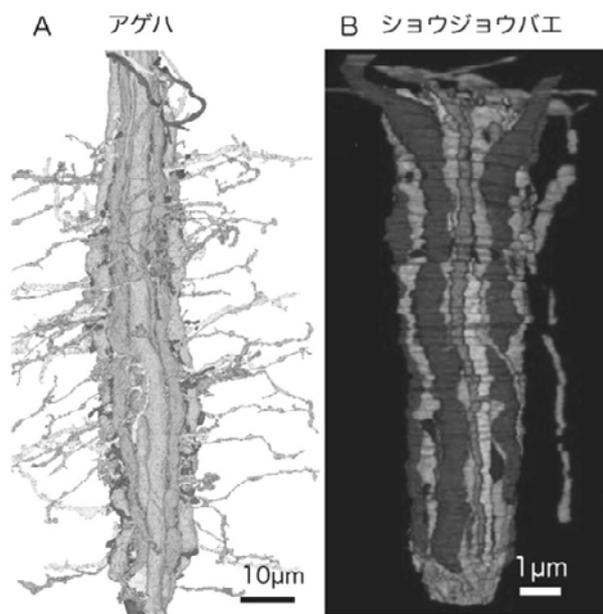
ありかわ けんたろう
蟻川 謙太郎

研究課題番号：18H05273 研究者番号：20167232

キーワード：昆虫、色覚、視細胞、視葉板、波長対比性

【研究の背景・目的】

昆虫の色覚神経機構とその進化に関する研究の一環として、私たちは視覚第一次中枢（視葉板）における視細胞間シナプスに着目する。視細胞が長い側枝を出して末端でつながるこのシナプスは恐らく抑制的で、アゲハ (*Papilio xuthus*) で私たちが初めて発見したものである。ヒトをも凌ぐ優れた色覚をもつアゲハは色覚研究のモデル種で、複眼には分光感度の違う6種の視細胞があることが分っている。分光感度が異なる視細胞が互いに抑制し合うと何が起こるのか？ 二次ニューロンには何が伝達されるのか？ 実は、この側枝とシナプスは、ショウジョウバエにはない。ハエでは視葉板に入る視細胞の分光感度がみな同じで、視葉板と色覚の関係が薄いためなのか？ そこで私たちは長い側枝と視細胞間シナプスが色覚神経機構の重要な要素であると考え、その役割をアゲハで詳しく調べることにした。シナプスを遮断したアゲハも作って色知覚との関係も探る。加えて、色覚の進化を深く議論する端緒をつかむため、視葉板の微細構造を数種の昆虫で比較する、比較解剖学実験も行なう。



Rivera-Alba et al. (2011)

視葉板カートリッジでの視細胞と二次ニューロンの3次元像。アゲハにある側枝はハエにはない。

【研究の方法】

研究目的を達成するため、私は3つの課題を設定する。第1は、視細胞間シナプスがつくる波長対比性の解析、第2は、二次ニューロンにおける波長情報処理機構の解析、第3は、視葉板構造多様性の比較生物学的・進化的解析である。

第1と第2の課題には、神経生理学による分光感度の精査を軸に、行動解析と神経解剖の手法で取り組む。CRISPR-Cas9法で作成するチャンネルのノックアウト個体と野生型個体を比較、視葉板における波長情報処理機構の実体を解明する。

第3の課題では、色覚の進化過程の解明を目指して、視葉板神経回路の比較解剖学的解析に取り組む。対象には、視覚系の研究がある程度進んでいる種の中から、複眼の細胞構成、色覚機能、系統などの観点から適切なもの約10種を慎重に選び、視葉板神経回路の実体が把握できるレベルの画像データを取得することをめざす。

【期待される成果と意義】

色覚は多くの動物が共有している。どんな動物でも光受容分子の基本構造は同じで、また、色恒常性などの高度な色知覚現象は昆虫にも見られる。ただ、ヒトと昆虫では神経系の基本デザインが異なるので、色覚の類似性は収斂進化の結果と考えられる。

昆虫色覚の研究は、Karl von Frischによるミツバチの研究以来、神経行動学の中心課題であり続けている。近年は新しい技術を応用したハエ類での研究の進展が著しいが、ハエ類の色覚は概して貧弱なため、チョウ類を用いた本研究で、色覚機構の本質とその進化の一端が明らかになると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

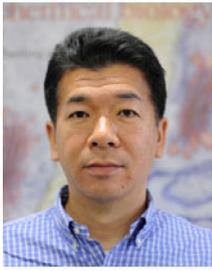
- Arikawa. *J Physiol*, 16: 5457-64, 2017
- Perry et al. *Nature*, 535: 280-4, 2016
- Kinoshita, Arikawa. *J Comp Physiol A*, 200: 513-26, 2014
- Takemura, Arikawa. *J Comp Neurol*, 494: 663-72, 2006
- Takeuchi et al. *J Exp Biol*, 209: 2873-9, 2006

【研究期間と研究経費】

平成30年度－34年度
154,000千円

【ホームページ等】

http://www.esb.soken.ac.jp/research/index.html#kentaro_arikawa



研究課題名 ペプチドシグナルを介した植物成長の分子機構

名古屋大学・大学院理学研究科・教授

まつばやし よしかつ
松林 嘉克

研究課題番号：18H05274 研究者番号：00313974

キーワード：ペプチドホルモン、受容体、シロイヌナズナ

【研究の背景・目的】

植物の成長制御に関わる新しい分子群として、ペプチドシグナルに注目が集まっている。これまで日本を中心に研究が発展してきた分泌型ペプチドホルモンに加えて、植物病原菌由来の外生ペプチドが植物の病害抵抗性の誘導に寄与する例や、最近では葉の篩部特異的に発現する非分泌型ペプチドが篩管内を長距離移行して根に栄養欠乏情報を伝える事例なども明らかになっている。

我々は、これまでに植物形態形成や環境応答に関わる4種類の新規ペプチドリガンド-受容体ペアや、篩管内長距離移行ペプチドシグナルを発見するとともに、より積極的にペプチドシグナルを同定するため、現象側ではなく分子側を出発点とした独自の方法論を確立してきた。

本研究は、これまでに蓄積した知見や技術を基盤として、内生および外生ペプチドシグナルのさらなる探索や、受容および細胞内情報伝達機構の解明を進め、ペプチドシグナルを介した植物成長の新しい分子機構を明らかにすることを目的としている。

【研究の方法】

①構造的特徴に着目した *in silico* スクリーニングによるペプチドシグナル探索：シロイヌナズナのゲノムデータベースを用いて候補ペプチドを選定し、成熟型ペプチドの構造を LC-MS/MS で決定した後、受容体発現ライブラリに対して結合実験を行ない、リガンド-受容体ペアを決定する。その後、発現パターンや、受容体欠損株の表現型解析を行ない、機能解明を進めていく。なお、この手法により、植物と関連の深い菌類のゲノム中にもペプチドシグナル様候補が見出されるため、それらの機能についても解析する。

②受容体ビーズを用いたリガンドフィッシング：受容体を固定化したカラムに、リガンドを含むと考えられるクルードサンプルを流して、リガンドを選

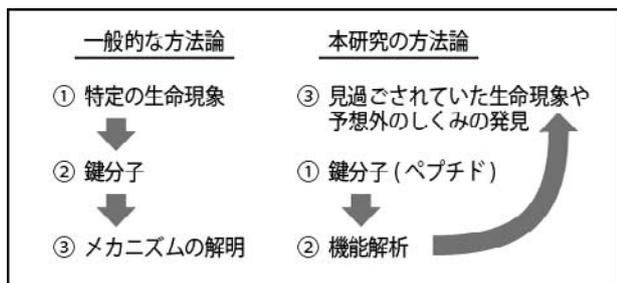


図1 本研究における方法論の概要

択的に釣り上げる。当面は、植物病原菌をシロイヌナズナ培養細胞と液体共培養した培養液をサンプルとして、エリシターペプチドの同定を目指す。技術が成熟すれば、より存在量が少ない内生のペプチドホルモン探索にも挑戦する。

③篩部特異的発現を示す非分泌型ペプチド群：組織特異的マイクロアレイデータから、篩部特異的発現を示す非分泌型ペプチド群を得ている。これらは、篩管内長距離移行ペプチドシグナルの可能性はある。これらについて、過剰発現株の作製やターゲット遺伝子群の同定、多重変異株の表現型解析などを通して、機能解明を進めていく。

【期待される成果と意義】

本研究では、最初に生命現象に着目する生物学の一般的手法とは手順が異なり、まずペプチド分子の側に着目し、機能解析を経て最終的にしくみや現象の説明を目指している。この独自の手法により、従来の手法では見過ごされていた植物成長のしくみや環境応答機構の解明が期待される。新規シグナルの発見は、新しい研究領域開拓の突破口として常に大きなインパクトがある。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Tabata R., Sumida K., Yoshii T., Ohyama K., Shinohara H., Matsubayashi Y. Perception of root-derived peptides by shoot LRR-RKs mediates systemic N-demand signaling. *Science* **346**, 343-346 (2014)
- Ohkubo Y., Tanaka M., Tabata R., Ogawa-Ohnishi M., Matsubayashi Y. Shoot-to-root mobile polypeptides involved in systemic regulation of nitrogen acquisition. *Nature Plants* **3**, 17029 (2017)
- Nakayama T., Shinohara H., Tanaka M., Baba K., Ogawa-Ohnishi M., Matsubayashi Y. A peptide hormone required for Casparian strip diffusion-barrier formation in *Arabidopsis* roots. *Science* **355**, 284-286 (2017)

【研究期間と研究経費】

平成30年度-34年度
148,100千円

【ホームページ等】

<http://www.bio.nagoya-u.ac.jp/~b2/>

【基盤研究(S)】

大区分G



研究課題名 ゴルジ体を中心とした選別輸送機構の超解像ライブイメージングによる完全解明

理化学研究所・光量子工学研究センター・副センター長

なかの あきひこ
中野 明彦

研究課題番号：18H05275 研究者番号：90142140

キーワード：膜交通、ゴルジ体、選別輸送

【研究の背景・目的】

膜交通のメカニズムの理解は、超解像ライブイメージングの最先端技術によって根底から刷新されようとしている。我々は最近、細胞内を激しく動き回る小胞を4次元追跡できるきわめて時空間分解能の高い顕微鏡技術の開発に成功した。これによって小胞体→ゴルジ体→トランスゴルジ網という分泌経路の根幹の輸送過程を詳細に解析し、これまで描かれてきた膜交通のモデルを徹底的に検証し、真のメカニズムの完全解明を目指す。酵母細胞、植物細胞、動物細胞のそれぞれの専門家が、対応する輸送過程を比較検討し、細胞内体制が一見異なる三者から共通原理を抽出し、またそれぞれ独自のシステムの特徴を理解することによって、生命が編み出した選別輸送のメカニズムを包括的に理解する。

【研究の方法】

開発した超解像共焦点ライブイメージング顕微鏡(SCLIM2)を駆使して、以下の研究を進める。

[酵母細胞] ①ゴルジ体 *cis* 槽による小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ槽間での積荷の受け渡し。③TGNでの複数経路の仕分けの時空間的制御。

[植物細胞] ①ゴルジ体初期区画 GECCOによる小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ体層板内での積荷の輸送。③TGNでの複数経路の仕分けの時空間的制御。

[動物細胞] ①小胞体ーゴルジ体中間区画 ERGICによる小胞体からの積荷の受け取り。②ゴルジ体層板内およびTGNでの積荷の輸送。③神経軸索におけるゴルジ体の役割。

【期待される成果と意義】

SCLIM顕微鏡は、既存の顕微鏡に比べて遥かに優れた時空間分解能を有し、細胞内のライブ観察を行うために適した技術である。しかし、小胞が激しく動き回る現象を追うには、さらなる性能改善が求められていた。この度我々は、検出系の感度を1000倍向上させることに成功し、時空間4Dスペースでの完全単一光子測定と自ら開発した画期的なデコンボリューションアルゴリズムによって、細胞内の蛍光分子を詳高速3Dで詳細に追うことを可能にした(SCLIM2の完成、図1)。この技術は世界に無二のものであり、オルガネラ膜上での被覆タンパク質のアセンブリー、積荷の選択とパッケージング、区画間での積荷の受け渡しなど、これまで見えそうで見

えず、攻めあぐねていた現象から、ついにボールを取り去ってくれる。

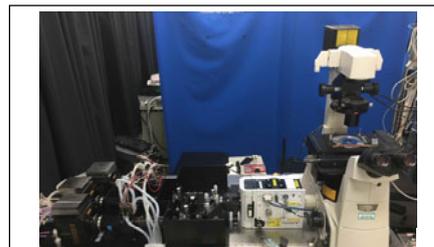


図1 SCLIM2

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ito, Y., Uemura, T., and Nakano, A. (2018). Golgi Entry Core Compartment functions as the COPII-independent scaffold for ER-Golgi transport in plant cells. *J. Cell Sci.* 131:jcs203893.
- Ishii, M., Suda, Y., Kurokawa, K., and Nakano, A. (2016). COPI is essential for Golgi cisternal maturation and dynamics. *J. Cell Sci.* 129:3251-3261.
- Kurokawa, K., Suda, Y. and Nakano, A. (2016). Sar1 localizes at the rims of COPII-coated membranes *in vivo*. *J. Cell Sci.* 129:3231-3237.
- Kurokawa, K., Okamoto, M., and Nakano, A. (2014). Contact of *cis*-Golgi with ER exit sites executes cargo capture and delivery from the ER. *Nat. Commun.* 5:3653.
- Uemura, T., Suda, Y., Ueda, T., and Nakano, A. (2014). Dynamic behavior of the *trans*-Golgi network in root tissues of Arabidopsis revealed by super-resolution live imaging. *Plant Cell Physiol.* 55:694-670.
- Suda, Y., Kurokawa, K., Hirata, R., and Nakano, A. (2013). Rab GAP cascade regulates dynamics of Ypt6 during the Golgi maturation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 110:18976-18981.

【研究期間と研究経費】

平成30年度ー34年度
148,300千円

【ホームページ等】

<https://rap.riken.jp/labs/sprg/lcmirt/>

【基盤研究(S)】

大区分G



研究課題名 コンデンシン I と II の分子メカニズムの解明

理化学研究所・開拓研究本部・主任研究員

ひらの たつや
平野 達也

研究課題番号： 18H05276 研究者番号： 50212171

キーワード： 生化学、細胞生物学、数理生物学、染色体、細胞分裂

【研究の背景・目的】

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ることを示して世界を驚かせた。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（下図）。

【研究の方法】

(1) 組換え型コンデンシン I と II を発現・精製し、カエル卵抽出液（試験管内で染色体構築を再現できる実験系）を利用してその機能を検定する。野生型ホロ複合体に加え、点変異を導入したホロ複合体およびサブユニット欠失型複合体を利用して、コンデンシン I と II の作用機序と制御機構を探る。
(2) 組換え型コンデンシン I と II をリン酸化によって活性化するシステムを確立し、それらの試

験管内活性を徹底的に比較すると同時に、両者が協調的に働く分子メカニズムを解明する。

(3) 数理モデリングとシミュレーションを通して、染色体構築において2つのコンデンシンが果たす機能の理解を深める。こうした理論的アプローチは、実験的アプローチを補完するばかりでなく、新たな実験をデザインするためのアイデアを提供する。

【期待される成果と意義】

分裂期の染色体がいかに構築されるのかという問題は、現代細胞生物学に残された大きな問題の一つである。コンデンシンの発見から20年が経過し、この問題の核心にメスを入れるためのアイデア・技術・材料がようやく成熟してきた。本研究を通して、2つのコンデンシンの共同作業による染色体構築の全貌が明らかになることが期待される。その成果は、分裂期にとどまらず、細胞周期を通じた高次クロマチン構築とその破綻を伴う疾患の理解に大きなインパクトをもたらすものと考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kinoshita, K., T. J. Kobayashi, and T. Hirano. (2015). Balancing acts of two HEAT subunits of condensin I support dynamic assembly of chromosome axes. *Dev. Cell.* 33:94-106.
- Hirano, T. (2016). Condensin-based chromosome organization from bacteria to vertebrates. *Cell.* 164:847-857.

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度 - 34 年度
148,800 千円

【ホームページ等】

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

