

Earnshaw研究室 Earnshaw group



アーンショウ, ウィリアム C.
客員教授 (ウエルカムトラスト主任研究者、エジンバラ大学教授)
EARNSHAW, William C.
Visiting Professor (Principal Research Fellow of the Wellcome Trust, Professor of Chromosome Dynamics, The University of Edinburgh)

Marko研究室 Marko Group



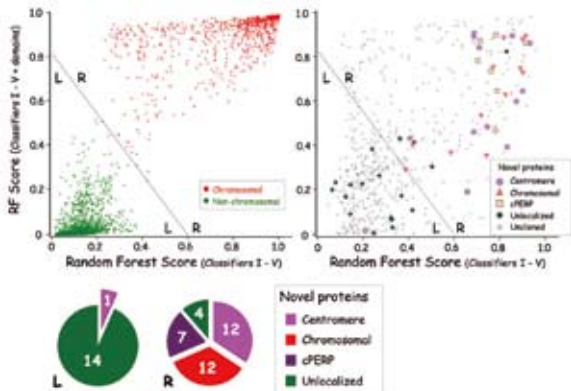
マルコ, ジョン F.
客員教授 (米国ノースウェスタン大学教授)
MARKO, John F.
Visiting Professor (Professor, Departments of Molecular Biosciences and Physics & Astronomy, Northwestern University, Evanston IL)

分裂期染色体の機能と構造に関する研究

「分裂期染色体やキネトコアを構成する構造タンパク質に実体は何であるか?」、「キネトコア集合のためにクロマチンのエピジェティック制御がどのようにはたらいているのか?」、「染色体パッセンジャー複合体(CPC)が細胞分裂をどのように制御しているのか?」の3つの研究プロジェクトを行なっている。1つ目の課題では、Juri Rappsilber との共同研究によって、プロテオミクスとバイオインフォマティクスを融合させ、新規染色体タンパク質の機能同定や、クローン化されていない100近いキネトコアタンパク質の同定に成功している。2つ目の課題では、人工染色体(HAC)のキネトコア上のヒストン修飾を解析することでヒストンH3のK4のメチル化がキネトコア維持に重要であることを見いだした。3つ目の課題では、遺伝学手法を用いてCPCの解析を行い、INCENPがAuroraBカインエースの活性を制御して、この活性の向上が細胞分裂の進行に必須であることを明らかにした。

Studies of mitotic chromosome structure and function

We study three questions: What are the structural proteins of the mitotic chromosome and kinetochore? How does chromatin provide an epigenetic landscape permissive for kinetochore assembly? How does the chromosomal passenger complex (CPC) regulate mitosis? In collaboration with Juri Rappsilber we used a novel approach combining proteomics, microarray and bioinformatic analyses to group known and unknown chromosomal proteins into functional clusters. We correctly predicted the functions of two novel chromosomal proteins and predicted based on an unbiased machine-learning analysis that nearly 100 novel kinetochore proteins remain to be cloned. Epigenetic engineering of the kinetochore chromatin environment in a synthetic human artificial chromosome (HAC) revealed that the histone modification H3K4me2 is essential for kinetochore maintenance. H3K4me2 probably provides a chromatin "memory" promoting low-level transcription of the kinetochore. Lastly, genetic studies of the CPC revealed that INCENP can act as a rheostat to control the levels of Aurora B kinase activity and that increasing levels of this activity are required during mitotic progression.



図一 左: Random Forest 解析によって染色体タンパク質 (赤) と非染色体タンパク質が分離している。右および下の円図: 約50の機能未知のタンパク質の局在を GFP 融合タンパク質として発現させ解析した結果、90%以上の確率で Random Forest 解析で得られた予想と一致した。Random Forest 解析は、Rappsilber 研究室の imi-Carlo Bukowski-Wills によって行われた。

Figure - Left: Random Forest (RF) machine learning analysis separates training sets of chromosomal (red) from non-chromosomal (green) proteins. Right: Fifty unknown proteins run through the RF analysis were cloned and tagged with GFP. This analysis has an >90% ability to separate chromosomal from non-chromosomal proteins as shown in the pie charts (Lower). Random forest analysis performed by Jimi-Carlo Bukowski-Wills in the Rappsilber lab.

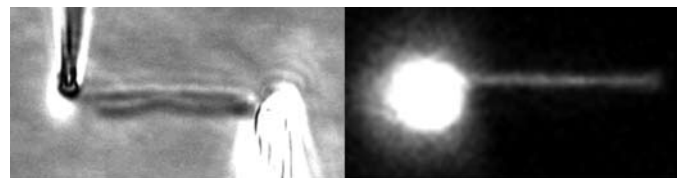
DNAの作り出す高次構造の物理学

細胞内でのゲノムDNAの読み見出し、修復、複製、分配のプロセスは、DNAの高次構造レベルでの再構築が関与しており、力学的な見地からのみ完全に理解できると考えられる。私たちのグループでは、DNA-蛋白質の相互作用やDNAの折り畳み構造を、ナノメートルレベル・ピコニュートンレベルでの微細操作によって物理的に調べている。具体的には「磁気ピンセット」技術を用いて、蛋白質によるDNAの折り畳みを力学的応答によって調べたり、1個の染色体を細胞の超微細顕微手術により単離し、微小な力学測定をおこなっている。主な研究対象は、染色体の高次構造や、染色体に必須なSMC蛋白質複合体の機能、ヌクレオソームのダイナミクス、トポイソメラーゼやリコンビナーゼの作用機序、蛋白質のDNAに対する結合解離の速度論的解析などである。

Physics of large-scale DNA organization

Research Description

The processes by which chromosomes are read, repaired, duplicated and segregated in cells involve large-scale physical reorganizations that can only be fully understood in terms of driving forces and mechanical responses. Our group is focused on the use of nanometer-scale position and piconewton-scale force measurements to analyze the interactions of proteins with DNA and to study large-scale chromosome folding. We use single-molecule "magnetic tweezers" techniques to analyze folding and processing of individual DNA molecules by proteins via studies of response of protein-DNA complexes to forces and supercoiling, and we also isolate individual chromosomes using cell microsurgery for micromechanical experiments. Main directions for our research include studies of large-scale chromosome structure, functions of SMC protein complex, dynamics of nucleosomes in chromatin, mechanisms of topoisomerases and recombinases, and kinetic pathways for protein binding, unbinding, and target search on DNA.



図一 左: ヒト分裂期染色体の微細操作。Sun et al, Phys. Biol. (2011)。右: 48.5kbのラムダDNA分子に結合した細菌の染色体蛋白質である gfp-Fis を磁気粒子で引っ張っている。Graham et al, Nucl. Acids Res. (2011)。

Figure - Left: Micromanipulation of human metaphase chromosome. Sun et al, Phys. Biol. (2011). Right: 48.5 kb -DNA molecule bound by gfp-Fis, a bacterial chromosome protein, pulled by magnetic particle. Graham et al, Nucl. Acids Res. (2011).

Website: <http://markolab.bmbcb.northwestern.edu/marko/>
Photo: enclosed as separate file