

Nuclear structure and gene expression 遺伝子複合体の高次構造と転写因子



プロジェクトリーダー 萩原正敏
 東京医科歯科大学
 難治疾患研究所 教授

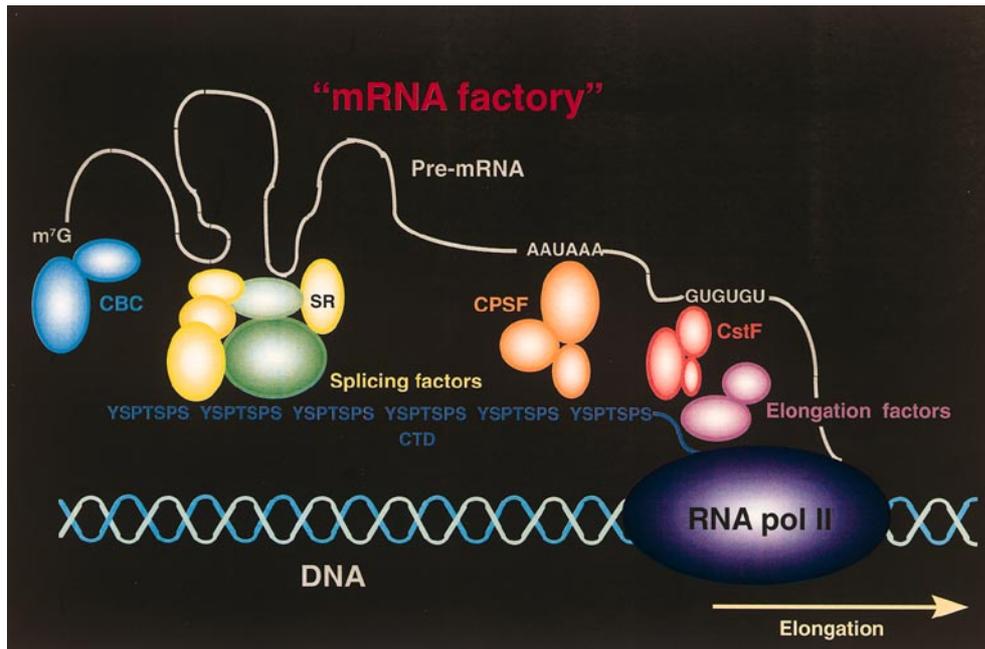


図 1 . RNA ポリメラーゼ II (RNAPol II) の CTD に集合する mRNAfactory 構成タンパク質群を模式的に示した。実際の CTD は、YSPTSPS の繰り返し配列が 26 ~ 52 回反復する。わかりやすくするため、CTD を拡大して mRNA プロセッシング因子群を個別に表したが、実際は一塊の巨大な核内複合体を形成するものと想像される。

1. 研究の目的

真核生物の遺伝子発現機構の研究が急速に進展し、個々の遺伝子の発現を制御する転写因子の同定が進むにつれて、各コンポーネントを詳細に検討する方向から、遺伝子複合体の全容を見通す総合的な理解が必要な時代に入りつつある。本研究プロジェクトでは、クロマチンなど核内高次構造の変化から、転写を経て RNA プロセッシングにいたるまでを俯瞰し、遺伝子発現機構においてクロマチンなど核内構造体の有する意義を解明することを目指す。学術的には、従来のゲルシフトやレポーターアッセイでは解明できなかったクロマチンなど核内高次構造による転写抑制・脱抑制機構や、存在が示唆されながら実体が不明なトランスクリプトソームの構成成分や核内構造体との相関が明らかになることが期待できる。社会的には、さまざまなガン細胞に頻発する染色体異常やガン抑制遺伝子の発現低下による発癌機構、核内高次構造による転写抑制、脱抑制機構の異常に起因する発生異常などを解決する糸口となる可能性がある。

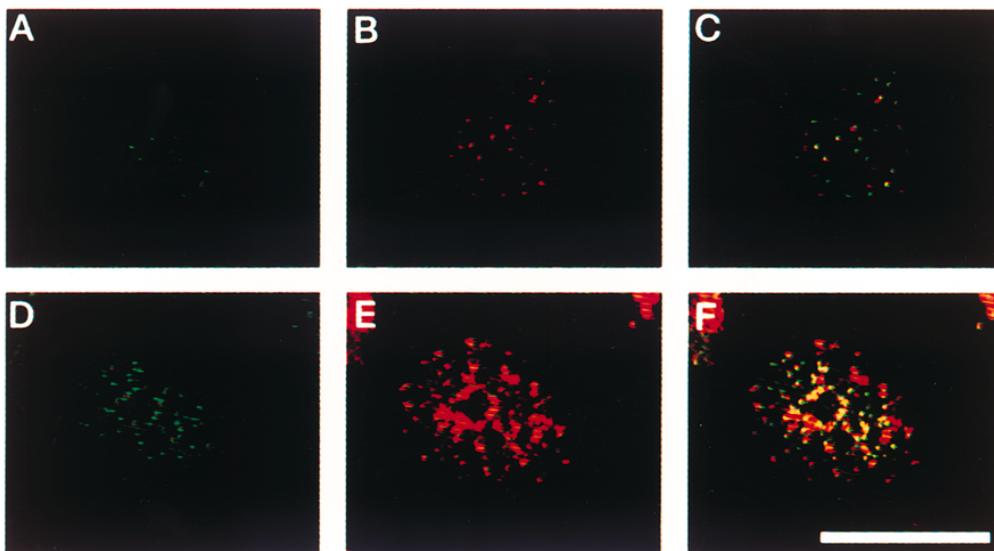


図 2 . トランスクリプトゾームとスプライソゾーム
 A、D:内在するスプライシング因子 SC35 (A) とリン酸化 RNA ポリメラーゼ II の染色像 (D、緑)。それぞれスプライソゾームとトランスクリプトゾームを示すと考えられる。
 B、E:cDNA を導入して発現させた SR タンパク質リン酸化酵素 Clk4 (赤)
 C、F:二重染色像。
 スケールバーは 20um

2. 研究の内容

(1) 遺伝子複合体の高次構造と mRNAfactory の連携

転写から mRNA プロセシングに至る mRNAfactory の連携機構を明らかにすることを主たる目的とする。mRNAfactory とは、図 1 に示したような、RNA ポリメラーゼ II とその最大サブユニットの CTD に結合する種々の mRNA 前駆体 (pre-mRNA) 修飾因子群より成る核内装置を思い描いている。mRNA の転写開始に必要な RNA ポリメラーゼ II の各サブユニット、各種基本転写因子群や特異的転写因子、共役因子の他に、伸長因子、キャッピング酵素、ポリ(A)付加因子、スプライシング因子などによって構成されていると想像される。実際、スプライシング因子である SR タンパク質は、従来考えられていたようにスプライソゾームに局在しているだけでなく、転写活性化部位にも局在している。逆に、CTD がリン酸化された RNA ポリメラーゼ II はスプライソゾームに局在していることが最近見出された。これらのことから転写の場であるトランスクリプトゾームとスプライソゾームは同一であると思われる。本研究では、核骨格、トランスクリプトゾーム、スプライソゾーム等の相互作用の分子機構を明らかにし、さらに、転写複合体に RNA プロセシングを触媒する因子群がいかにして連携しているのかを解析する。得に、mRNAfactory 構成分子の離合集散に SR 蛋白のリン酸化が重要な役割を果たしているとの独自の仮説を検証する。

(2) DNA 高次構造と RNA ポリメラーゼ I による遺伝子転写制御機構

真核生物の核内では遺伝子転写、複製など、生命維持の源とも言える現象が営まれている。細胞は遺伝情報を安定に保ち、そして正確に発現させるための重要な機構としてクロマチンとよばれる DNA 高次構造を保持している。クロマチンの最小単位はヌクレオソームとよばれる構造で、これは遺伝子転写、複製など個々の現象と連携して構成、再構成をくり返し、動的に変化している。この制御機構は遺伝子発現や遺伝子の不安定性、すなわち分化や発癌とも密接に関連している。本研究では、クロマチンの材料を豊富に貯えているショウジョウバエを材料としてクロマチン構造再構成のメカニズムを明らかにし、RNA ポリメラーゼ I 系遺伝子転写における DNA 高次構造の役割および制御機構を解明する。この構造は種をこえて非常によく保存されているため、ショウジョウバエから得た材料を研究することは、ヒトのクロマチン構造再編成のメカニズムを明らかにすることと同義である。

(3) クロマチン構造を介した転写 - 組換え制御機構の解明

真核生物のゲノム DNA は生体内では、ヒストンと結合しクロマチン構造をとっている。従って、多くの生体反応は以下の 2 つのステップを経ていると思われる。(1) まず、高度に折り畳まれたクロマチンが開く。(2) 次に、生体反応開始タンパクが開いたクロマチン DNA を認識し、作動する。従来の生体反応の研究は (2) に関するものがほとんどであり、(1) に関する研究は DNase 超感受性領域の検索といった研究しかなされていらない。真核生物の生体反応調節機構を解明する上で (1) の研究は (2) の研究同様に非常に重要と思われる。近年、酵母を用いた解析から上記 2 つの転写反応ステップに関与する SW1 遺伝子が同定された。さらに、SW1 遺伝子は相同組換えの開始機構にも関与することが示され、転写制御と組換え開始との関連が強く示唆された。本研究では、組換え開始蛋白質を精製し生化学的にその活性を調べることにより、転写と組換えの制御機構の関わりを生化学的手法を用いて解明することを目指す。



3. 研究の体制

期 間：1998 年 7 月 ~ 2003 年 3 月

構 成：プロジェクトリーダー：萩原正敏（東京医科歯科大学・
難治疾患研究所・教授）

コメンター：伊藤 敬（埼玉医科大学・助手）

太田 力（国立遺伝学研究所・助手）

研究協力者：4 名

実施場所：東京医科歯科大学・難治疾患研究所・機能調節疾患部門（形質発現）

埼玉医科大学・生化学第 2

国立遺伝学研究所・細胞遺伝研究