

【基盤研究(S)】 大区分G



研究課題名 コヒーシンによるエンハンソーム制御：転写伸長反応制御の統合的理解に向けて

東京大学・定量生命科学研究所・教授
しらひげ かつひこ
白髭 克彦

研究課題番号： 20H05686 研究者番号：90273854

キーワード： 染色体高次構造、転写伸長反応、ATP モーター、コヒーシン、エンハンソーム

【研究の背景・目的】

コヒーシンは真核細胞の染色体高次構造制御において中心的な役割を果たすタンパク質複合体であり、近年、ATP 依存的に DNA にループ構造を導入するモーター活性を有することが示されてきている。コヒーシンは姉妹染色分体間接着因子として機能するが、我々はコヒーシンが遺伝子のインシュレーター配列やエンハンサー領域に結合すること、さらにはコヒーシンの役割の一つは遺伝子の転写伸長反応の制御に関わることを明らかにしてきた。その役割はプロモドメインタンパク質 BRD4 や超伸長複合体 AFF4 など既知の転写伸長制御因子と密接に関係しており、発生・分化制御やがん悪性化において重要な

How Cohesin Regulates Transcriptional Elongation?

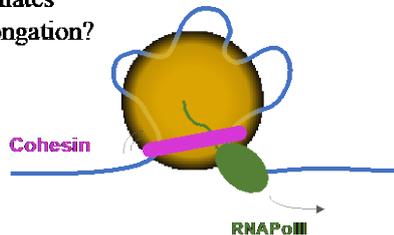


図1 本研究の目的

役割を果たすことが示唆される。近年、一部のエンハンサーDNA 上には「液-液相分離」に支配される不定形で動的な巨大タンパク質ネットワークが形成されていると報告され、弱い相互作用の集積物としてエンハンサー上の複合体(エンハンソーム)を捉え直すことも求められている。本申請課題は、エンハンソームによる転写伸長制御反応を特にコヒーシンに焦点を当てて分子的に理解すること、その生理的意義を明らかにすることを目的とする(図1)。

【研究の方法】

以下の4つのアプローチを取る。(1) 試験管内再構成を用いたエンハンソームにおけるコヒーシン機能の解明:既に HeLa 核抽出液を用いてエンハンソームを再構成することに成功している。定量的ウェスタンブロットに加えて質量分析により集積因子の量とコヒーシンと NIPBL の修飾について網羅的に解析する。コヒーシン除去あるいは変異で DNA 高次構造に違いが生まれているかもしれないためこの点も評価する。形成されたエンハンソームを単離し、高速原子間力顕微鏡(高速 AFM)で直接可視化する。エンハンソームの構造はダイナミックに変化して

いないか、コヒーシンがその変化を誘起するのでないかという点を調査する。(2) 核内エンハンソームの高解像度可視化を通じたコヒーシンの機能解析:(1)の試験管内で得た結果を補完することを目的として、細胞内エンハンサーを対象としたゲノム学的手法を用いた解析を行う。(3) エンハンソームのタンパク質性・非タンパク質性構成因子の網羅的同定:エンハンソームは多様なタンパク質からなる巨大な複合体である。エンハンソーム構成因子として未同定なものがまだある可能性が高いため、新規手法により、質量分析と組み合わせ、エンハンソーム中に存在するタンパク質の網羅的同定を行う。(4) コヒーシン修飾と転写反応への関与:(1)の反応系でコヒーシンおよび NIPBL のリン酸化修飾、アセチル化修飾を調べ、そのエンハンソーム制御への関与を検討する。

【期待される成果と意義】

コヒーシン/NIPBL, AFF4, BRD4 に生じた変異は発生の異常を引き起こすことが知られる。また、血球系を中心とした発がんにも関わっている。エンハンソームによる転写伸長制御は、分化経路の選択や分化状態の維持において不可欠な役割を担っていると予想される。本研究の成果は、これらの疾病の分子レベルでの理解に大きく寄与すると期待される。近年エピジェネティクス経路を標的とした抗がん剤が開発・使用されるようになってきている。転写伸長制御経路も、同様に抗がん剤の標的となりうる。本研究がもたらすエンハンソームの基礎的理解は、将来の創薬開発の礎ともなる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Izumi K, Nakato R, ... Shirahige K*, Krantz ID* (*共責任著者). Germline gain-of-function mutations in AFF4 cause a developmental syndrome functionally linking the super elongation complex and cohesin. *Nat Genet.* 47:338-344, (2015).
- ・ Deardorff MA, Bando M, Nakato R, ... Shirahige K.* HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature.* 489:313-317, (2012)

【研究期間と研究経費】

令和2年度-6年度 151,800千円

【ホームページ等】

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