

【基盤研究(S)】
大区分G



研究課題名 ストリゴラクトンを介した植物の環境情報と成長を統御するシステムの原型と進化

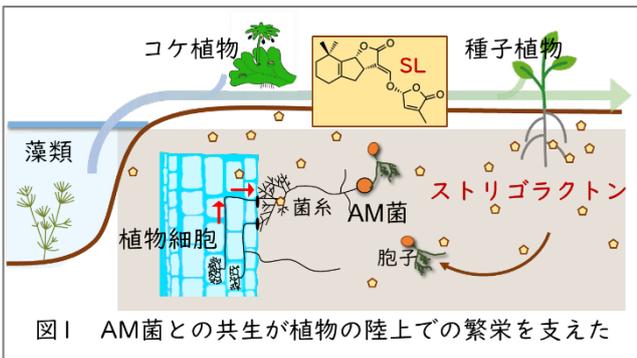
東北大学・大学院生命科学研究科・教授
きょうづか じゅんこ
経塚 淳子

研究課題番号： 20H05684 研究者番号：90273838

キーワード： 植物ホルモン、ストリゴラクトン、AM菌共生、根圏シグナル物質

【研究の背景・目的】

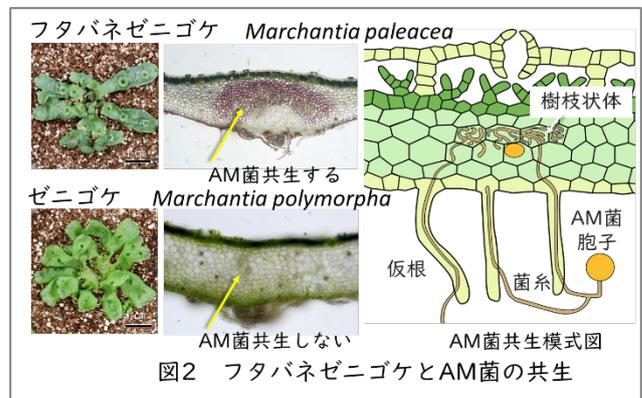
4億年以上前に陸上に進出した植物は、陸上の過酷な環境に適応する仕組みを進化させ、陸上で繁栄してきた。土壤養分が乏しいということも陸上進出において克服すべき問題であったが、植物はAM菌(*Arbuscular mycorrhizal fungi*)との共生システムを進化させることで効率的な養分吸収(特にリン)を可能にした。すなわち、AM菌共生は植物の陸上進出を可能にし、さらにその後の陸上での繁栄を支えてきた。ストリゴラクトン(SL)は根から分泌されて土壤中でAM菌との共生を促進する根圏シグナル物質である(図1)。さらに、種子植物では、SLは個体内で成長を調節する植物ホルモンとしても働く。SLがホルモンとして細胞内でも機能するようになったことにより、植物は絶えず変動する環境の中で土壤からの養分吸収と成長とのバランスをとりつつ最適な成長を実現できるようになった。本研究では、植物がAM菌との共生関係を構築し、それに合わせて成長を調節する仕組みを進化させた道筋を分子レベルで理解することを目的とする。



【研究の方法】

基部陸上植物であるコケ植物を主な研究材料に用い、分子遺伝学的手法、分子マーカーを用いたイメージング、ゲノム科学的手法、有機化学的手法などを駆使して研究を進める。苔類ゼニゴケ属のほとんどの種はAM菌と共生するが、分子遺伝学研究のモデル植物であるゼニゴケは例外的にAM菌共生しない。そこで、AM菌共生するフタバネゼニゴケとゼニゴケを適宜比較しながら研究を進める(図2)。フタバネゼニゴケにおけるSLの機能を詳細に解析し、SLの祖先型の機能は根圏シグナルであるという仮説を検証する。また、私たちが同定した新規SL(Bryosimbiol)が祖先型のSLであることを検証し、これがコケのどの部位で合成され、どこから分泌されるのか明らかにする。SLを分泌する輸送体を単離し、SLが個体外

に分泌される仕組みを明らかにし、さらに、SL合成や分泌のリンによる制御を解明する。植物ホルモンとしてのSLの機能の基になったKL信号伝達系について、このコケ植物における機能を解明する。リガンドKLの同定に挑む。



【期待される成果と意義】

本研究からは、1. 物質を介した生物間コミュニケーションの原型や進化、2. 植物ホルモン進化、3. 植物ホルモン合成、信号伝達の起源や多様化の基盤、4. 養分吸収と成長のバランス制御の原型、などが明らかになるものと期待される。植物の陸上進出は植物の進化にとって画期的であっただけでなく、その後の地球環境をも大きく変えた生物進化の一大事であった。AM菌との共生を介した土壤からの養分吸収と成長のバランス制御機構は、陸上進出以降の植物の繁栄を可能にした突破口であり、本研究から地球が緑の惑星となりえた理由の一端が明らかになる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Kameoka H, Kyojuka J (2018) Spatial regulation of strigolactone function. *J. Exp. Bot.* 69:2255
- ・ Umehara M, Hanada A, Yoshida S, Akiyama K, Arite T, Takeda-Kamiya N, Magome H, Kamiya Y, Shirasu K, Yoneyama K, Kyojuka J, Yamaguchi S. (2008) Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones. *Nature* 455: 195

【研究期間と研究経費】

令和2年度-6年度 151,400千円

【ホームページ等】

<http://www.lifesci.tohoku.ac.jp/PlantDev/>

【基盤研究(S)】

大区分G



研究課題名 大脳スパイン形態可塑性からシナプスメカノバイオロジーの建設と光操作

東京大学・大学院医学系研究科・教授

かさい はるお
河西 春郎

研究課題番号： 20H05685 研究者番号：60224375

キーワード： 学習、記憶、シナプス、可塑性、細胞運動、メカノバイオロジー

【研究の背景・目的】

2000年代に入り急速に発展した大脳シナプス形態可塑性の究明は、透過性に優れた2光子顕微鏡技術による高解像度の組織観察が背景にある。申請者は独自に開発した2光子アンケイジング法を2光子顕微鏡観察と組み合わせ、大脳興奮性シナプスの後部にある直径1 μ mほどの樹状突起棘（スパイン）の微細形態変化を観測し、スパイン形態そのものに可塑性があり個体学習と関係することを証明してきた。本計画では、この研究をシナプス前部の終末にも拡張し、スパインに接続するシナプス前終末に対するスパイン増大の力学作用を明らかにするシナプスメカノバイオロジーを建設する。まず、速い動態変化を示す早期のメカノバイオロジーの究明し、その後続く長期メカノバイオロジーについても、増大シナプス後部・前部を高い精度で標識・光操作するプローブの開発により長期観測を可能にする。こうして個体脳の学習過程のシナプスメカニクスを可視化する前例のない研究を導く。

【研究の方法】

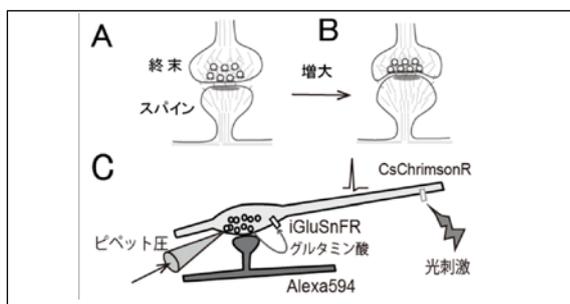


図1 スパインの機械的相互作用

学習に伴い大脳樹状突起では関係するスパインシナプスに増大が起きるが、この際、シナプス前終末を押す効果が出るのが予想されていたが、検証されていなかった。今回、2光子アンケイジング、グルタミン酸センサー、光遺伝学、分泌現象のエンジンを可視化するSNARE/FRETプローブ、Q-dotコート電極を用いることで、軸索を押すとSNAREが複合化し、活動電位による誘発開口放出の成功率が増すことがわかった。この効果は浸透圧刺激でも起き、また、学習刺激に伴うスパイン頭部増大でも起きる。即ち、シナプス前終末には圧感覚・変換機能があり、これによりシナプスは力学的な相互作用をしている。ここで、面白いのは、この圧効果は1分で起きるがその効果

が20分以上持続し、作業記憶の細胞機構として有力な候補が加わった。

学習と行動の関係については、腹側線条体で直接路が汎化的な報酬学習を、間接路が弁別学習を行い、それぞれの際、投射細胞のスパインの増大が起きることがスライスと行動実験を用いて示した。

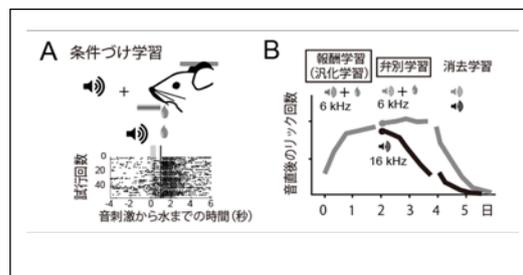


図2 マウスの汎化弁別学習

【期待される成果と意義】

圧効果は短期的な頭部増大より長く持つので、作業記憶能に関係している可能性は高い。本研究においては、まず、終末の圧感覚・変換機能の論文を初めて明かにする論文を公表し、その分子細胞機転を超解像的に明らかにして、その薬理作用や責任分子を特定して、個体の作業記憶との関係が取れる様にしていく。また、側坐核学習のシナプス基盤を確立する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Takahashi, N., Sawada, W., Noguchi, J., Watanabe, S., Ucar, H., Hayashi-Takagi, A., Yagishita, S., Ohno, M., Tokumaru, H. & Kasai, H. (2015). Two-photon fluorescence lifetime imaging of primed SNARE complexes in presynaptic terminals and β cells. *Nature Communications* 6:8531.

Iino, Y., Sawada, T., Yamaguchi, Tajiri, M., K., Ishii, S., Kasai, H.* & Yagishita, S.* (2020) Dopamine D2 receptors in discrimination learning and spine enlargement. *Nature* 579: 555-560.

【研究期間と研究経費】

令和2年度-6年度 150,700千円

【ホームページ等】

<https://www.bm2.m.u-tokyo.ac.jp/>
hkasai@m.u-tokyo.ac.jp



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?

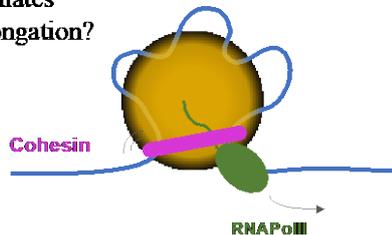


図1 本研究の目的

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/>

【基盤研究(S)】
大区分G



研究課題名 気孔開度調節のシグナル伝達の解明と植物の成長制御

名古屋大学・トランスフォーマティブ生命分子研究所・教授

きのした としのり
木下 俊則

研究課題番号： 20H05687 研究者番号：50271101

キーワード： 気孔、シグナル伝達、光合成、成長、乾燥耐性

【研究の背景・目的】

植物の表皮に存在する気孔は、植物固有の代謝反応である光合成に必要な二酸化炭素の唯一の取り入れ口であり、刻々と変動する環境にตอบสนองしてその開度を調節している。気孔を構成する一対の孔辺細胞は、光にตอบสนองして気孔を開口させ、ガス交換を促進し、一方、乾燥ストレスに曝されると、植物ホルモン・アブシジン酸にตอบสนองして気孔を閉鎖し、植物からの水分損失を防いでいる。これまでの研究代表者らの研究により、孔辺細胞では、青色光や赤色光にตอบสนองして細胞膜 H^+ -ATPase がリン酸化により活性化され、気孔開口の駆動力を形成することなど、気孔開・閉に関わる重要な分子機構の一端が明らかとなってきた。

本提案では、光にตอบสนองした気孔開口や閉鎖の分子機構を、申請者らのこれまでに培ってきた技術・経験を生かした生理・生化学的、遺伝学的手法やケミカルバイオロジーを駆使して解明する。さらに、これらの知見に基づき気孔開度を人為的に制御することで、植物の成長促進や乾燥耐性の付与の技術確立を目指す。

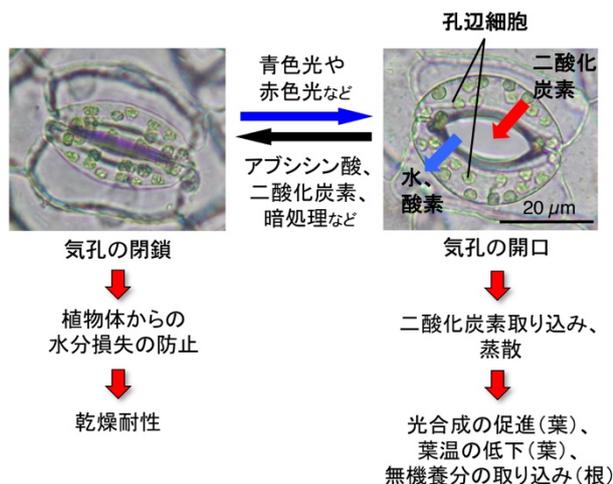


図1 気孔の開閉と働き

【研究の方法】

気孔開・閉のシグナル伝達の解明に向け、以下の研究項目1～3の研究を推進する。

研究項目1、孔辺細胞の H^+ -ATPase のリン酸化制御に関わるキナーゼ・ホスファターゼの解析：光による気孔開口では細胞膜 H^+ -ATPase C末端のリン酸化を介した活性化が必須であるが、この反応に関わるキナーゼやホスファターゼは未だ同定されていない。そこで、ケミカルバイオロジー、遺伝学的・生化学解析を駆使することで、これらの同定を目指す。

研究項目2、網羅的ホスホプロテオミクスや遺伝学的解析による気孔開・閉調節因子の探索：気孔開閉のシグナルにตอบสนองして孔辺細胞内でリン酸化による調節を受ける因子やシグナル伝達因子を探索し機能解析を行い、気孔開・閉の分子機構を解明する。

研究項目3、気孔開度に影響を与える化合物の同定と作用機作の解明：研究代表者らが世界で初めて確立した気孔開度に影響を与える化合物の網羅的スクリーニングをさらに進め、気孔の開・閉のシグナル伝達の分子機構を明らかにする。

研究項目1～3の結果に基づき、気孔開度制御技術の確立とその利用を進める。

研究項目4、気孔開度制御した植物体の成長促進や乾燥耐性の付与：研究項目1～3の研究で明らかとなった気孔開度制御遺伝子や化合物を利用して、有用植物の気孔開度制御を行い、植物の成長や乾燥耐性の表現型の解析を行う。

【期待される成果と意義】

以上の研究を進めることで、気孔開・閉の分子機構を明らかにし、植物の特徴的な環境応答のシグナル伝達系のモデルとして生物学に貢献する。また、これらの基礎的な研究成果に基づいた人為的な気孔開度制御技術の開発にも取り組み、光合成の集大成である農作物による食料生産向上、植物への乾燥などのストレス耐性の付与を進め、農学や植物を利用した低炭素社会の発展に貢献する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Inoue S, Kinoshita T. (2017) Blue light regulation of stomatal opening and the plasma membrane H^+ -ATPase. *Plant Physiology*, 174, 531-538.
- ・ Wang Y, Noguchi K, Ono N, Inoue S, Terashima I, Kinoshita T (2014) Overexpression of plasma membrane H^+ -ATPase in guard cells promotes light-induced stomatal opening and enhances plant growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 111, 533-538.

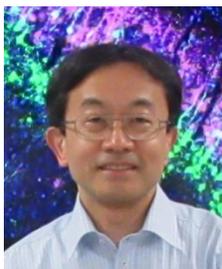
【研究期間と研究経費】

令和2年度～6年度 143,800千円

【ホームページ等】

<http://plantphys.bio.nagoya-u.ac.jp>
kinoshita@bio.nagoya-u.ac.jp

【基盤研究(S)】
大区分G



研究課題名 脳皮質の構築機構の解明

慶應義塾大学・医学部・教授
なかじま かずのり
仲嶋 一範

研究課題番号： 20H05688 研究者番号：90280734
キーワード： 脳皮質、発生分化、形態形成、ニューロン、グリア細胞

【研究の背景・目的】

我々の脳には、皮質と呼ばれる特徴的な構造があります。皮質では、脳の表面に無数のニューロン（神経細胞）たちが層構造を作って並んでいます。特に大脳皮質はヒトで大きく発達して様々な高次脳機能を営んでおり、まさにヒトをヒトたらしめている進化の最高傑作とも言われています。

本研究では、主にマウスをモデルとして、脳皮質の三次元的な基本構造が、それを構成する細胞たちの相互作用を通して発生期に構築されていくメカニズムを明らかにすることを目指します。まずは大脳皮質ニューロンが産生されて移動し、それぞれ特異的な機能を担うニューロンへと適切に分化して、脳表面近くで整然と層状に配列していくしくみを明らかにすることを目指します。また、脳においてニューロンより圧倒的に多く存在するグリア細胞のうち、特に脳機能に積極的に関与する主要な構成細胞であるにも関わらず発生過程の知見が乏しいアストロサイトについて、どこでどのように産生され、分化し、皮質内に広く分布していくのかを明らかにすることを目指します。さらに、皮質ニューロンの数を増やすためには、脳表面にシワを作って脳皮質の表面積を増やすことが重要ですが、この組織全体のグローバルな形態変化が、細胞間相互作用などにより制御される可能性の検証を試みます。

【研究の方法】

大脳皮質のニューロンは、脳表面直下に“inside-out”と呼ばれる様式で層構造を作っていきます（図1）。この様式での細胞配置を制御しているのがリーリンという分子で、脳表面にある辺縁帯のカハール・レチウス細胞という分子から分泌されます。私たちは、リーリンを本来と異なる部位で強制発現させる実験により、リーリンが単独でこの“inside-out”様式でのニューロン配

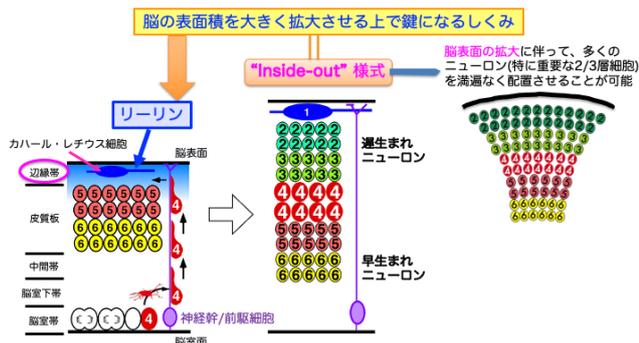


図1 “inside-out 様式”による大脳皮質の形成



図2 リーリンによるニューロン配置の制御

置を実現していることを見出しました（図2）。そこで本研究では、その分子機構を調べます。また、各ニューロンの最終分化運命が、細胞外因子によって変化しうることも見出しましたので、その機序を検討します。アストロサイトについては、ニューロンとは全く異なる移動様式を取ることを最近見つけたので、その動態と分化の制御機構を探ります。また、リーリンは脳のシワ形成にも重要な役割を果たしますので、リーリンがその標的細胞にいかなる変化を惹起するのかを調べ、組織全体の形態変化を制御するしくみを明らかにします。

【期待される成果と意義】

様々な精神神経疾患の背景に、発生過程における脳皮質の微細な異常が存在する可能性が近年注目されています。特にリーリンは統合失調症などの関連が具体的に報告されており、本研究の成果はそれら疾患の病態解明に繋がる可能性も期待されます。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Matsunaga, Y., Noda, M., Murakawa, H., Hayashi, K., Nagasaka, A., Inoue, S., Miyata, T., Miura, T., Kubo, K., and Nakajima, K. "Reelin transiently promotes N-cadherin-dependent neuronal adhesion during mouse cortical development." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 114 (8), 2048-2053 (2017).
- ・ Oishi, K., Aramaki, M., and Nakajima, K. "Mutually repressive interaction between Brn1/2 and Rorb contributes to establishment of neocortical layer 2/3 and layer 4." *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 113 (12), 3371-3376 (2016).

【研究期間と研究経費】

令和2年度－6年度 151,300千円

【ホームページ等】

<https://www.nakajimabio.com>
kazunori@keio.jp

【基盤研究(S)】
大区分G



研究課題名 ミトコンドリアの生合成と機能維持を担うタンパク質交通システムの分子基盤

京都産業大学・生命科学部・教授
えんどう としや
遠藤 斗志也

研究課題番号: 20H05689 研究者番号: 70152014

キーワード: ミトコンドリア, トランスロケータ, クライオ電子顕微鏡, タンパク質輸送

【研究の背景・目的】

ミトコンドリアは、真核生物の細胞でエネルギー産生とともに様々な物質代謝・情報伝達を担い、アポトーシスにも関わる。ミトコンドリアを細胞内でつくり維持するには、ミトコンドリアを構成する1000種あまりのタンパク質をサイトゾルから既存ミトコンドリアに配送し、ミトコンドリア内の不良タンパク質を検出・除去することが必須である。われわれは、タンパク質の配送システムは関与する装置（トランスロケータ）の構成成分の再編成を伴う動的変換により制御されること、ミトコンドリアタンパク質の品質管理システムは単なる分解系ではなく、ERも巻き込んだタンパク質配送のやりなおし（校正）機構として働くことを見出した。

本研究ではこれらの発見を足掛かりとして、出芽酵母を中心にミトコンドリアの交通システムと品質管理システムについて、クライオ電子顕微鏡（EM）による構造解析と構造に基づく生化学的・細胞生物学的解析を一気に進め、タンパク質の交通と品質管理に関する新たな原理を確立する。さらにこれまで不明であったミトコンドリア拡大を促す因子の探索を行う。これらの研究を通じて、ミトコンドリアが細胞内でいかに作られ、維持されるかという根源的問題の分子機構の統合的理解をめざす。

【研究の方法】

本研究で明らかにする「問い」は以下の通りである。

- (1) 外膜トランスロケータの TOM 複合体は、どのようにして1000種類におよぶ多様な基質を間違いなく選別し、膜透過させるのか、(2) 外膜トランスロケータの SAM 複合体はどのように基質のβバレル構造形成を促しつつ外膜への組み込みを実現するのか、
- (3) ミトコンドリア外膜の AAA-ATP アーゼである Msp1 はどのように配送やり直し（校正）を行うのか、配送やり直しの基質やオルガネラにはどの程度一般

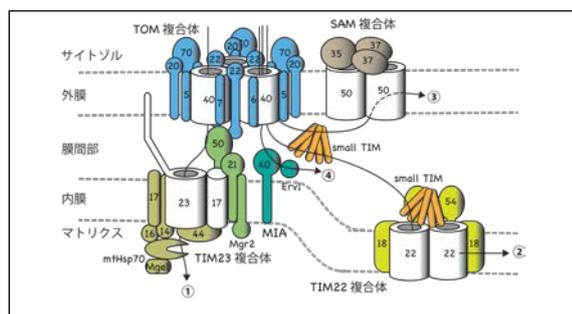


図1 ミトコンドリアへのタンパク質配送経路

性があるのか、(4) ミトコンドリアの配送能力低下でミトコンドリア外膜に蓄積した前駆体の処理について、TOM 複合体-Ubx2 を介した分解と Msp1 による校正はどのように行われるのか、(5) ミトコンドリア量の増加を制御する因子と経路は何か。これらの問いに答えるために、トランスロケータの精密構造解析、機能解析を展開し、*in vivo*, *in vitro* の生化学的、細胞生物学的解析、出芽酵母の利点を生かした分子遺伝学的選別と解析を進める。

【期待される成果と意義】

ミトコンドリアを巡るタンパク質交通システムの研究は、近年のクライオ電子顕微鏡の技術革新により新しいフェーズに入りつつある。本研究でもこうした構造生物学の新しい手法を駆使して、動的な精密構造を解明し、それを基盤として、トランスロケータの基本的な作動原理と調節の分子機構の理解を一気に進めることをめざしている。また、これまで知られていなかった、タンパク質の細胞内配送におけるやり直し（校正）、とくにオルガネラ間での誤配送のやり直しという新しい概念についても、その全貌解明を目指している。また、ミトコンドリアの量を制御する因子の探索同定はミトコンドリア生合成の新たな原理解明にもつながる。こうした結果はミトコンドリアに限定されるものではなく、各オルガネラへのタンパク質の交通全般、細胞内構造形成全般の研究に広くインパクトを与えるものと考えられる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- ・ Araiso, Y. *et al.* Structure of the mitochondrial import gate reveals distinct preprotein paths. *Nature* 575, 395-401 (2019).
- ・ Matsumoto, S. *et al.* Msp1 clears mistargeted proteins by facilitating their transfer from mitochondria to the ER. *Mol. Cell* 76, 191-205 (2019).

【研究期間と研究経費】

令和2年度～6年度 151,300千円

【ホームページ等】

<http://endolab.jp/wp/tendo@cc.kyoto-su.ac.jp>



研究課題名 転写と中核的な生命機能を結びつける高次複合体の構造基盤

理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

せきね しゅんいち

関根 俊一

研究課題番号： 20H05690 研究者番号：50321774

キーワード： RNAポリメラーゼ、転写因子、ヌクレオソーム、リボソーム、クライオ電子顕微鏡

【研究の背景・目的】

DNAの遺伝情報をRNAに転写する巨大なタンパク質複合体であるRNAポリメラーゼは、細胞内の様々な分子と相互作用し、多くの生命機能を支えるハブとして機能している。真核生物では、RNAポリメラーゼIIによる転写は、エピジェネティクスやシグナル伝達、mRNAプロセッシングといった重要な生命機能と密に連携している。また、原核生物では、RNAポリメラーゼとリボソームは複合体を形成し、転写と翻訳は協調的に行われる。しかしながら、これらの諸機能と転写との接点で形成される複合体が具体的にどのような構造をとっており、どのように機能し、制御と結びついているのかはほとんど分かっていない。近年のクライオ電子顕微鏡解析技術の進歩により、巨大な複合体同士が組み合わさって形成される超複合体の構造や、それらが機能する仕組みを、細胞内での状態に近い状態で捉えることができる時代になってきている。本研究では、RNAポリメラーゼを中心に、ヌクレオソームやエピジェネティクス因子、巨大転写因子、RNAプロセッシング因子、リボソーム等を含めた超複合体の構造解析を行うことで、転写そのもののメカニズムだけでなく、転写とそれに隣接する重要な生命機能との相互関連の構造基盤を解明する。

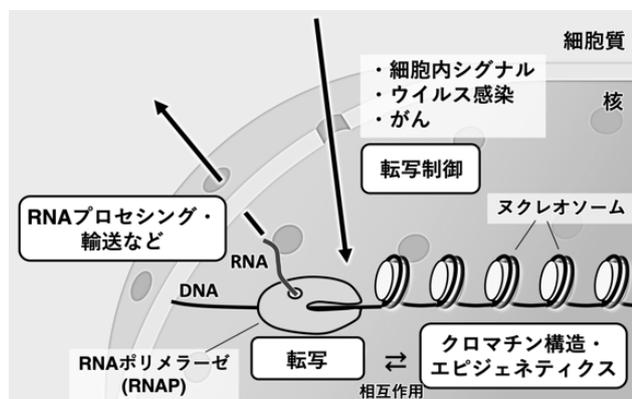


図1. 転写とそれに関連する様々な事象の相互作用

【研究の方法】

本研究では、転写とエピジェネティクスとの関係、高等生物における転写制御、転写とmRNAプロセッシングの連携、細菌における転写と翻訳の共役の分子メカニズムに焦点を当てる。これらの現象に含まれ

る重要な高次複合体を試験管内で再構成し、主にクライオ電子顕微鏡を用いてその構造を明らかにする。試験管内再構成が難しいものについては、細胞から複合体を直接単離精製し、含まれるコンポーネントを質量分析等で同定しつつ、直接構造解析することも試みる。生化学的解析や変異体解析等と組み合わせ、転写とそれを取り巻く種々のプロセスとの相互作用や連携、制御のメカニズムを近原子分解能で明らかにする。

【期待される成果と意義】

生体分子が細胞内でどのように相互作用し、どのような高次の複合体を形成して細胞の機能を支えているのか、その理解は遅れている。本研究では、RNAポリメラーゼを中心に形成される高次複合体の構造解析を行うことで、転写と接点をもつ重要な生命機能(エピジェネティクス、高次転写制御、mRNAプロセッシング、翻訳等)の相互関連の分子メカニズムを解明し、これまでブラックボックスであったクロマチン内での転写や制御の仕組みを原子分解能で明らかにする。高等真核生物の転写制御の研究から、ウイルスやがんの増殖メカニズムに関する重要な知見が得られることも期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Ehara, H.,* Kujirai, T.,* Fujino, Y., Shirouzu, M., Kurumizaka, H.† and Sekine, S.† “Structural insight into nucleosome transcription by RNA polymerase II with elongation factors”, *Science* 363, 744-747 (2019).
- Kujirai, T.,* Ehara, T.,* Fujino, Y., Shirouzu, M., Sekine, S.† and Kurumizaka, H.† “Structural basis of the nucleosome transition during RNA polymerase II passage”, *Science* 362, 595-598 (2018).
- Ehara, H., Yokoyama, T., Shigematsu, H., Yokoyama, S., Shirouzu, M. and Sekine, S.† “Structure of the complete elongation complex of RNA polymerase II with basal factors”, *Science* 357, 921-924 (2017).

【研究期間と研究経費】

令和2年度－6年度 145,500千円

【ホームページ等】

<https://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/sekine-s/index.html>
shunichi.sekine@riken.jp