

コアプロモーターを介した転写バースト制御メカニズムを解明

1. 発表者：

余越 萌（東京大学 定量生命科学研究所 遺伝子発現ダイナミクス研究分野 助教）
川崎 洸司（東京大学 定量生命科学研究所 遺伝子発現ダイナミクス研究分野 特任研究員）
深谷 雄志（東京大学 定量生命科学研究所 遺伝子発現ダイナミクス研究分野 准教授）

2. 発表のポイント：

- ◆コアプロモーター（注1）の機能を、生きたショウジョウバエ初期胚で可視化するライブイメージング技術を新たに開発しました。
- ◆コアプロモーターが「転写バースト」（注2）の振幅や頻度を緻密に制御していることを明らかにしました。
- ◆内在遺伝子のコアプロモーターを改変すると、転写バーストの制御が大きく乱れ、形態形成異常を引き起こすことを解明しました。
- ◆遺伝子発現プログラムや細胞運命を制御する新たなゲノム技術の開発や、疾患の発症メカニズムの解明に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

DNA からタンパク質の設計図となる mRNA を合成する転写反応の制御において中心的な役割を担うのは、コアプロモーターやエンハンサー（注3）と呼ばれるゲノム中の調節領域です。エンハンサーは転写活性の ON/OFF を切り替えるスイッチとして、個体発生における遺伝子発現を時空間的に制御しています。一方で、コアプロモーターはエンハンサーからの転写活性化の合図を受け取り、遺伝子発現を開始する役割を担っています。重要なことに、エンハンサーは標的遺伝子から「転写バースト」と呼ばれる不連続状の転写反応を誘導することが知られています。しかし一方で、転写バースト制御におけるコアプロモーターの役割はこれまで十分に理解されてきませんでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の余越 萌 助教、川崎 洸司 特任研究員、深谷 雄志 准教授の研究チームは、転写制御におけるコアプロモーターの働きを生きたショウジョウバエ初期胚において直接可視化するライブイメージング技術を新たに開発しました。詳細な定量画像解析の結果、エンハンサーとは独立して、コアプロモーター自身も転写バーストの制御において重要な役割を担うことを新たに見出しました。さらにゲノム編集を用いて内在遺伝子のコアプロモーターを改変したところ、転写バーストの制御が大きく乱れ、形態形成異常を引き起こすことが明らかとなりました。以上の成果は、遺伝子発現制御における基本原理の解明に留まらず、疾患の原因となるコアプロモーター変異の同定や、新規医療技術の開発に向けた基盤的知見となることが期待されます。

3. 発表内容：

転写制御において中心的な役割を担うのは、エンハンサーやコアプロモーターと呼ばれるゲノム中の調節領域です。エンハンサーは、配列特異的な転写因子やコアクティベーターとの結合を介して、転写活性の時空間的な特異性を決定する役割を担っています。一方でコアプロモーターは基本転写因子との結合を介して、転写反応を担う RNA ポリメラーゼ II を呼び込む足場となる重要な機能を果たしています。転写反応を誘導するためにはコアプロモーター単独で

は十分ではなく、ゲノム中の離れた場所に存在するエンハンサーとの相互作用を必要とします。そしてこの相互作用を通じて、細胞分化や個体発生における遺伝子発現が時空間的に緻密に制御されています。

コアプロモーターは、遺伝子の転写開始点を含む80塩基程度のDNA領域で、複数の配列エレメントから構成されています(図1)。具体的には、TATA-box (TATA)や Initiator (Inr)、Motif 10 element (MTE)、Downstream promoter element (DPE)などの配列がコアプロモーター中の適切な位置に存在しており、これらは TFIID と呼ばれる基本転写因子によって認識されます。重要なことに、ゲノム中におけるコアプロモーターを構成する配列エレメントは遺伝子ごとに大きく異なっており、エンハンサーに対する「応答性」を変化させることで、転写量を緻密に制御していると考えられています。しかし、コアプロモーター配列の違いがどのように、転写動態の制御に寄与するかという時間的側面からの理解は大きく遅れていました。特に近年のイメージング解析から、エンハンサーが標的遺伝子から「転写バースト」と呼ばれる不連続状の転写活性を誘導する新たな働きを持つことが報告されていますが、コアプロモーターがどのように転写バーストの制御に寄与するかという重要な問いは依然として手付かずの状態でした。

そこで本研究では、MS2/MCP 転写ライブイメージング技術(注4)を用いて、転写バースト制御におけるコアプロモーターの働きを、生きたショウジョウバエ初期胚で可視化する新たな実験系を開発しました。コアプロモーター中の配列エレメントを改変したショウジョウバエ系統をシステムティックに作製し、転写動態の変化を1細胞レベルで定量解析した結果、全く同じエンハンサーの制御下にある場合においても、たった数塩基程度のコアプロモーター配列の違いによって、転写バースト活性が大きく変化することが明らかになりました。特に TATA は転写バーストの頻度と振幅の両方を増大させる役割を担っている一方で、Inr・MTE・DPE は主に転写バーストの頻度の調節に寄与しているという機能的な違いが存在することを初めて解明しました(図2)。

さらに本研究では、上記解析から得られた実験結果の普遍性を検証するため、*fushi tarazu* (*ftz*) と呼ばれる初期胚の分節化に必須な遺伝子をモデルとして、内在遺伝子座におけるコアプロモーターの詳細な機能解析を行いました。ゲノム編集技術(注5)を用いて *ftz* のコアプロモーター領域を特異的に改変したところ、先ほどの結果と一致して TATA や DPE が転写バーストの振幅や頻度を異なる形で調節していることが明らかとなりました。重要なことに、各変異によって *ftz* 遺伝子の時空間的な発現パターンニングが大きく乱れ、結果として初期胚の体節形成に異常が生じることが明らかとなりました。以上の成果は、個体発生における遺伝子発現制御の基本原理の解明に留まらず、疾患の原因となるコアプロモーター変異の同定や、新規医療技術の開発に向けた基盤的知見となることが期待されます。

4. 発表雑誌:

雑誌名: 「Nucleic Acids Research」 (オンライン版: 12月13日)

論文タイトル: Dynamic modulation of enhancer responsiveness by core promoter elements in living *Drosophila* embryos

著者: Moe Yokoshi, Koji Kawasaki (同等貢献), Manuel Cambón, Takashi Fukaya

DOI 番号: 10.1093/nar/gkab1177

URL: <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1177>

5. 問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 遺伝子発現ダイナミクス研究分野
准教授 深谷 雄志 (ふかや たかし)

Tel: 03-5841-1453

Mail: tfukaya@iqb.u-tokyo.ac.jp

6. 用語解説：

注1) コアプロモーター

転写開始点を含む約 80 塩基程度の短い DNA 領域。TFIID などの基本転写因子との結合を介して、遺伝子本体に RNA ポリメラーゼ II を呼び込む足場として機能する。

注2) 転写バースト

転写は連続的な反応ではなく、数分おきに ON/OFF を繰り返しながら揺らいでいる。こうした転写活性の揺らぎのことを転写バーストと呼ぶ。転写バーストはショウジョウバエだけではなく、マウスやヒトなどの高等真核生物においても広く観察されている。

注3) エンハンサー

標的遺伝子の転写活性を制御するゲノム中の調節領域。配列特異的な転写因子との結合を介して、コアプロモーターへの RNA ポリメラーゼ II の呼び込みを促進する役割を持つ。

注4) MS2/MCP 転写ライブイメージング技術

MS2 と呼ばれる特殊な RNA 配列と、MCP と呼ばれるタンパク質の相互作用を利用した可視化技術。MS2 配列をコードする遺伝子から新たに RNA が合成される反応を、MCP と緑色蛍光タンパク質 (GFP) の融合タンパク質によって可視化することができる。ホルマリンによる固定などの操作を必要とせずに、生きた細胞における遺伝子発現を直接検出できる利点がある。

注5) ゲノム編集技術

CRISPR/Cas9 に代表される細菌が持つ獲得免疫システム。この仕組みを応用することで、ゲノム中の任意の配列を切断・改変することができる。

7. 添付資料：

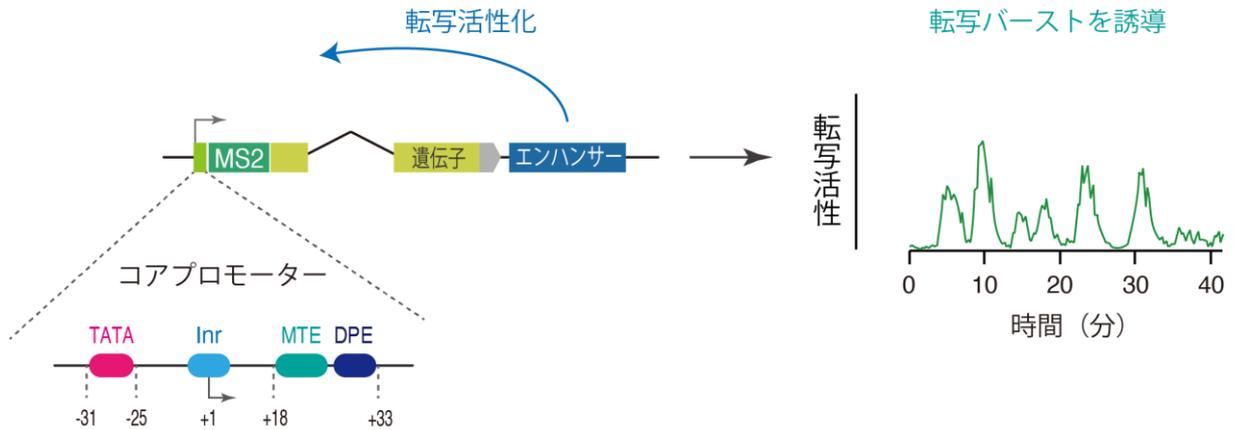


図1：コアプロモーターはエンハンサーからの転写活性化の指令を受け取ることで、転写バーストを生み出します。コアプロモーターには TATA や Inr、MTE、DPE に代表される配列エレメントが存在しており、遺伝子ごとにその組成が大きく異なります。しかし、コアプロモーター配列の違いがどのように転写バーストに影響を及ぼすかは、これまで十分に理解されてきませんでした。

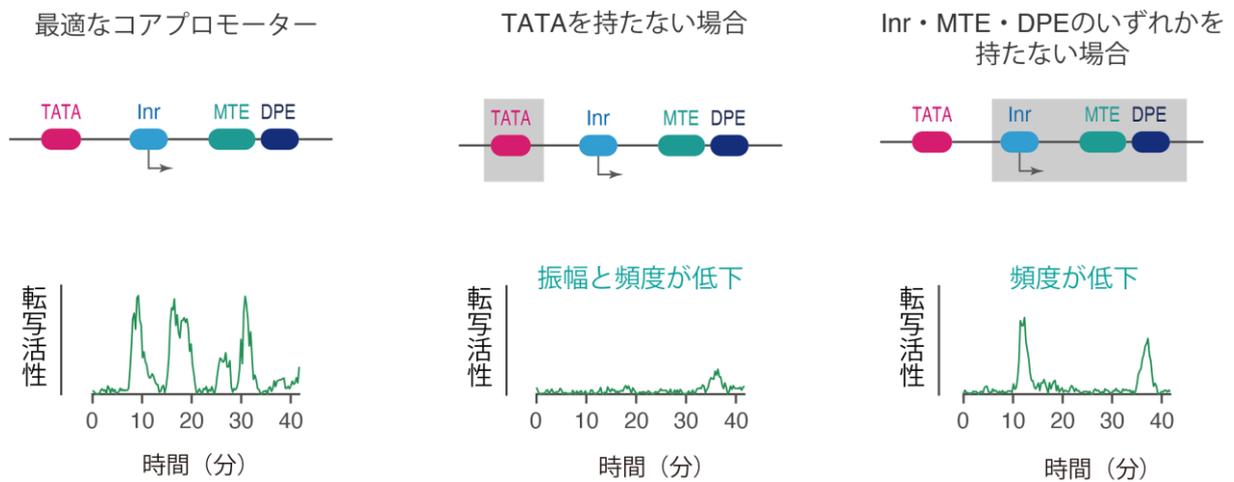


図2：本研究により、TATA は転写バーストの「振幅」と「頻度」の両方の制御に重要な役割を担うことが分かりました。一方で、Inr・MTE・DPE は主に転写バーストの「頻度」を制御していることを明らかにしました。コアプロモーターに変異が生じ、適切に転写バーストを制御できなくなったショウジョウバエは、体節形成の異常などの表現型を示します。