

高次ゲノム構造が遺伝子発現を制御する仕組みを解明

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）
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 講師）

発表のポイント：

- ◆TAD と呼ばれる高次ゲノム構造が遺伝子発現制御に果たす機能を、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の構築に成功しました。
- ◆TAD に依存した転写活性化と、非依存的な転写活性化という 2 つの異なる遺伝子発現経路が存在することを発見しました。
- ◆染色体の基本的な構造単位である TAD の機能が解明されたことで、「ゲノム情報がどのように読み出されるのか」という根本的な謎の解明が期待されます。

発表概要：

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（注1）と呼ばれる調節配列です。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働くことで、個体発生における遺伝子発現を緻密に制御しています。重要なことに近年、ゲノムは Topologically Associating Domain (TAD、注2) と呼ばれるループ構造を基本単位として緻密に折り畳まれていることが理解されてきました。つまりエンハンサーは、こうしたゲノムの三次元的な折り畳み構造の中において標的遺伝子に作用し、転写活性を制御していると考えられています。しかし、そもそも TAD がエンハンサーによる転写制御においてどのような機能を果たすかについては未解明のままでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の余越 萌助教、深谷 雄志講師らの研究チームは、TAD 形成が転写活性に与える影響をショウジョウバエ生体内において直接可視化するライブイメージング技術を構築することに成功しました。その結果、エンハンサーには TAD 形成に依存して初めて機能を発揮するものと、依存せずに働くものの二種類が存在することを発見しました。さらに、こうした依存性の違いは「遺伝子とエンハンサーの相対的な位置関係」によって生み出されていることを解明されました。以上の成果は、生物の持つゲノム情報がどのように発生段階や環境変化に応じて正確に読み出されているのかという基本原理の解明につながるものと期待されます。

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と呼ばれる調節配列です。ヒトゲノムには遺伝子数の 20 倍以上ものエンハンサーが存在し、いつ・どこで転写活性化するのかという遺伝子発現の時空間的特異性を制御する重要な役割を担っています。近年、エンハンサーに生じた変異によって遺伝子発現が乱れ、その結果として癌などの疾患を引き起こす例が相次いで報告されています。さらに、エンハンサーの働きを適切に制御することによって疾患の発症を抑える新たな医療・創薬の開発が国際的にも精力的に進められています。

近年、ゲノムは Topologically Associating Domain (TAD) と呼ばれるループ構造を基本単位として三次元的に緻密に折り畳まれていることが明らかとなってきました。TAD はその末端に存在する boundary element (境界エレメント、注3) と呼ばれる DNA 配列同士の相互作用によって作り出されると考えられています。重要なことに、エンハンサーの多くは自身が制御する遺伝子と同じ TAD 内に存在することが、ヒトからショウジョウバエに至るまで生物種間を超えて報告されています。このことから、TAD はエンハンサーと標的遺伝子を同じループ領域に閉じ込め物理的に近接させることで、転写活性化を促進するというモデルが提唱され広く受け入れられてきました。しかし一方で、TAD の形成を阻害した場合においても遺伝子発現は大きく変動しないという一見相反する実験結果も数多く報告されるなど、その役割については依然として混乱した状況が続いており、統一的な見解には至っていませんでした。

本研究では boundary element を用いて TAD を人工的に再構築する独自のレポーターシステムを駆使することにより、ゲノムの構造変化が転写制御に果たす役割を高精度に検出する実験系の構築に取り組みました。特にショウジョウバエ初期胚を用いた転写ライブイメージング技術を用いることにより、エンハンサーの働きを一細胞解像度かつリアルタイムに測定することに成功しました。その結果、boundary element が TAD の形成とは独立してエンハンサーによる転写活性化を促進するという新たな働きを持つことを見出しました。特に、「転写バースト」(注4) と呼ばれる転写活性の不連続性を正に制御することで、遺伝子発現を上昇させることを発見しました。以上の結果は boundary element がゲノムの構造変化というこれまで知られていた機能とは別に、エンハンサーによる転写活性化の「場」の形成を促進するという新たな働きを持つことを強く示唆しています(図1)。つまり従来の研究では boundary element の持つ TAD 形成機能とそれ以外の働きを区別せずに解析していたために、一見矛盾する結果が報告されてきたことが考えられます。

さらに本研究ではレポーター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)* と呼ばれる初期発生に必須な遺伝子をモデルとし、内在遺伝子座におけるエンハンサー作用機序について詳細な解析を行いました。その結果レポーター解析の結果と一致して、ゲノム編集によって TAD 形成を阻害した場合においても *ftz* の転写活性化は正常に起こり、初期胚発生の異常も見られませんでした。しかし興味深いことに、*ftz* に近接して存在するホメオティック遺伝子、*Sex comb reduced (Scr)* の発現が顕著に低下する様子が見られました。*Scr* の発現は、*ftz* を隔てて存在する遠位エンハンサーによって活性化されることが知られています。つまりこの場合、エンハンサーは近くに位置する *ftz* を飛び越えて、遠くにある *Scr* のみを活性化する特殊な性質を持っているわけです。そして TAD の形成は、こうした一部のエンハンサーの持つ“gene-skipping activity”(遺伝子飛び越え活性)に必須であることが明らかとなりました(図2)。以上の結果より、TAD に対する依存性は「エンハンサーと標的遺伝子の相対的な位置関係」によって大きく異なるという基本的なルールが初めて解明されました。

今回の成果は、これまで画一的に考えられてきた TAD の働きを個別に切り分けることにより、エンハンサーが状況に応じて boundary element やゲノム構造の変化と高度に連動しながら遺伝子発現制御に働くことを示した最初の例です。エンハンサーの機能不全が癌などの疾患と密接に関わることが報告されていることから、本成果は疾患の予防やその治療法の開発といった新たな医療技術の創出を促進する基盤的知見になるものと期待されます。

発表雑誌：

雑誌名：*Molecular Cell*

論文タイトル：

Visualizing the role of boundary elements in enhancer-promoter communication

著者：Moe Yokoshi, Kazuma Segawa, *Takashi Fukaya

DOI 番号：10.1016/j.molcel.2020.02.007

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

講師 深谷 雄志（ふかや たかし）

用語解説：

注1) エンハンサー

標的遺伝子の転写活性を制御する調節 DNA のこと。転写因子との結合を介して、標的遺伝子への RNA 合成酵素（RNA ポリメラーゼ II）の呼び込みを促進する役割を持つ。

注2) Topologically Associating Domain (TAD)

ゲノムの基本構造単位をなすループ状の染色体構造のこと。Hi-C と呼ばれる網羅的解析手法によってその存在が明らかとなった。ゲノムは TAD が数珠状に繋がり合うことで形作られており、ヒトからショウジョウバエに至るまで共通に見られる。

注3) Boundary element (境界エレメント)

数珠状に連なりあった TAD の境界に位置する DNA 配列のこと。境界の両端に位置する Boundary element 同士が相互作用することで TAD が形成される。Boundary element はコヒーシンや CTCF と呼ばれる DNA 結合タンパク質との結合を介して、その機能を発揮していると考えられている。

注4) 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。

添付資料：

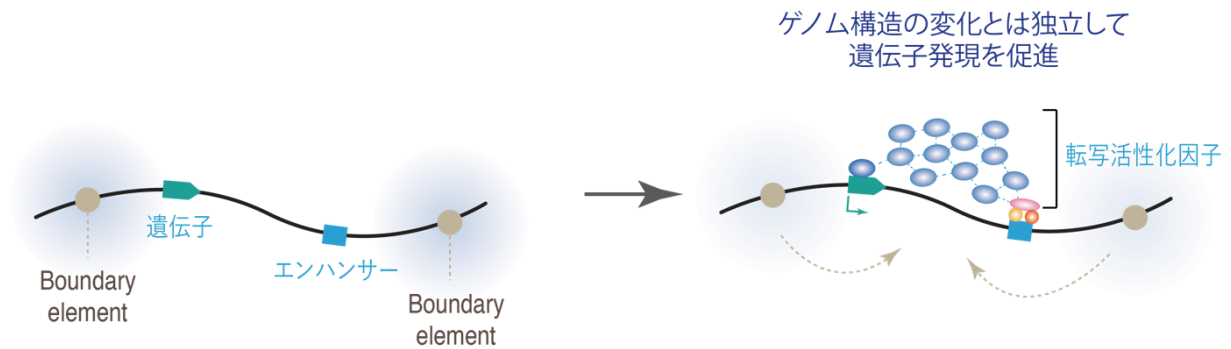


図1：Boundary element（境界エレメント）はゲノムの構造変化とは独立して、エンハンサーによる転写活性化を促進する働きを持つことが明らかとなりました。

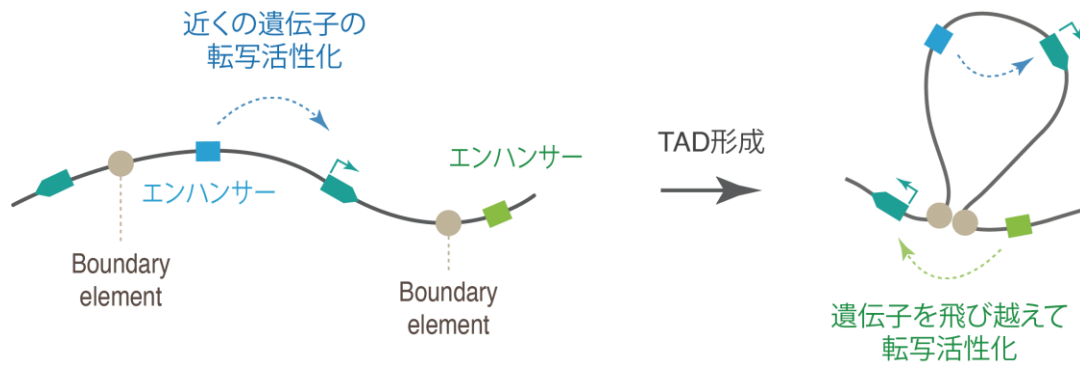


図2：TADの形成は、一部のエンハンサーの持つ“遺伝子飛び越え活性”に必要であることが明らかとなりました(右)。一方で、エンハンサーが近くの遺伝子を転写活性化する際にはTADの形成は必須ではありませんでした(左)。