

転写の「揺らぎ」から遺伝子発現の空間パターンが 生み出される仕組みを解明

1. 発表者：

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）

2. 発表のポイント：

- ◆発生運命を決定する遺伝子の発現を、生きたショウジョウバエ初期胚を用いてリアルタイムに可視化することに世界に先駆けて成功しました。
- ◆遺伝子発現は数分単位で振動しており、その「揺らぎ」の連続性の制御によって各遺伝子に特徴的な空間的発現パターンが生み出されていることを解明しました。
- ◆遺伝子発現の揺らぎが適切に制御されなくなると、発生異常が生じることを明らかにしました。本成果は、疾患の原因となる遺伝子発現異常メカニズムの解明につながるものと期待されます。

3. 発表概要：

遺伝子発現の第一ステップは DNA の情報を RNA へと写し取る転写と呼ばれる反応です。従来、転写は安定的に起こる反応であると信じられてきましたが、近年のイメージング解析技術の発展により、個々の細胞における転写活性は数分おきに ON/OFF を繰り返しながら動的に揺らいでいることが相次いで報告されています。こうした転写活性の揺らぎは「転写バースト」（注1）と呼ばれ、国際的にも大きな注目を集めています。しかし、実際の個体発生において、転写バーストがどのように制御されているのかという根本的な問いはこれまで未解明でした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の深谷 雄志講師は、ゲノム編集技術と独自のライブイメージング技術を組み合わせることで、生きたショウジョウバエ初期胚における転写バーストを直接可視化する実験系を新たに構築しました。詳細な解析の結果、初期胚内の位置によって転写バーストを生み出す連続性が柔軟に変化することで、個体発生における空間的な遺伝子発現パターンが制御されていることを解明しました。また転写バースト制御において、エンハンサー（注2）と呼ばれる調節 DNA が中心的な役割を果たすことを明らかとしました。エンハンサーの働きに異常が生じると、転写バーストが正しく制御できなくなり遺伝子発現の空間パターンが乱れ、結果として発生不全を引き起こすことも明らかとなりました。以上の成果は、疾患の原因となる遺伝子発現異常メカニズムの解明や治療法の開発につながるものと期待されます。

4. 発表内容：

遺伝子発現の第一ステップは DNA の情報を RNA へと写し取る転写と呼ばれる反応です。従来、転写は安定的に起こる反応であると信じられてきましたが、近年のイメージング解析技術の発展により、個々の細胞における転写活性は数分おきに ON/OFF を繰り返しながら動的に揺らいでいることが相次いで報告されています。こうした転写反応の揺らぎは「転写バースト」（注1）と呼ばれ、国際的にも大きな注目を集めています。しかし、実際の個体発生において、転写バーストがどのように制御されているのかという根本的な問いは未解明でした。特

に、1細胞レベルで不連続かつ不規則に起こって見える転写バーストから、どのようにして個体レベルにおける空間的な遺伝子発現パターンが再現性良く正確に作り出されるのかという点については、これまで全く理解されてきませんでした。

本研究では CRISPR/Cas9 (注3) を用いたゲノム編集技術と MS2/MCP ライブイメージング技術 (注4) を組み合わせることで、ショウジョウバエ初期発生における体節構造の形成に必須な分節遺伝子の転写活性を直接可視化する独自の実験技術を構築しました。さらに得られたライブイメージングデータを定量的に画像解析することで、ショウジョウバエ初期胚における一細胞ごとの転写活性の変化をリアルタイムに測定することに成功しました。その結果、初期胚内における相対的な位置によって分節遺伝子は異なる頻度で転写バーストを生み出しており、その連続性の違いによって RNA 合成量が空間的に制御されていることを世界に先駆けて明らかとしました (図1)。重要なことに、この仕組みはショウジョウバエで働く多くの分節遺伝子に共通して見られる普遍的な現象であることが分かりました。

さらに本研究では転写バーストの連続性を制御する情報が、どのように DNA にコードされているかについて詳細な解析を行いました。その結果、エンハンサー (注2) と呼ばれる調節 DNA が転写バーストの制御において中心的な役割を果たしていることを見出しました。分節遺伝子の多くは重複した機能を持つ近位エンハンサーと遠位エンハンサーの2つによって転写が制御されるという特徴を持っています。今回、分節遺伝子の中でも歴史的に最もよく研究されてきた *hunchback* 遺伝子 (注5) に着目して機能的な解析を進めました。ゲノム編集によって遠位エンハンサーを欠損させると、転写バーストの発生頻度が野生型に比べて顕著に上昇するという予想外な結果が得られました。このことから、遠位エンハンサーが離れた場所から近位エンハンサーによる転写バーストの誘導を阻害するという、これまで知られてこなかった新たな制御機構の存在が初めて明らかとなりました (図2)。さらに重要なことに、遠位エンハンサーの欠損により転写バーストが適切に制御されなくなると、遺伝子発現の空間パターンが乱れ、結果として初期胚における体節構造の形成に異常が生じることが示されました。

今回の成果は、これまで現象論的理解にとどまってきた転写バーストが、実際の個体発生における遺伝子発現制御で重要な役割を果たすことを示した最初の例です。本成果は、疾患の原因となる遺伝子発現異常メカニズムの解明やその治療法の開発など、新たな医療技術の創出に向けた基盤的知見になるものと期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Current Biology*

論文タイトル：

Dynamic regulation of anterior-posterior patterning genes in living *Drosophila* embryos

著者： Takashi Fukaya*

DOI 番号：10.1016/j.cub.2021.02.050

6. 注意事項：

日本時間 3月24日 (水) 午前0時 (アメリカ東部夏時間：3月23日 (火) 午前11時) 以前の公表は禁じられています。

7. 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)

Tel: 03-5841-1453

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

8. 用語解説：

注1) 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2) エンハンサー

標的遺伝子の転写活性を調節する役割を持つ DNA 領域のこと。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3) CRISPR/Cas9

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。

注4) MS2/MCP ライブイメージング

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) *hunchback* 遺伝子

ショウジョウバエ初期胚の胸部と腹部の分節化に必須な遺伝子。ノーベル生理学・医学賞受賞者である Nüsslein-Volhard と Wieschaus によって40年以上前に同定された。本研究によって、*hunchback* 遺伝子の新たな発現制御メカニズムが解明された。

9. 添付資料：

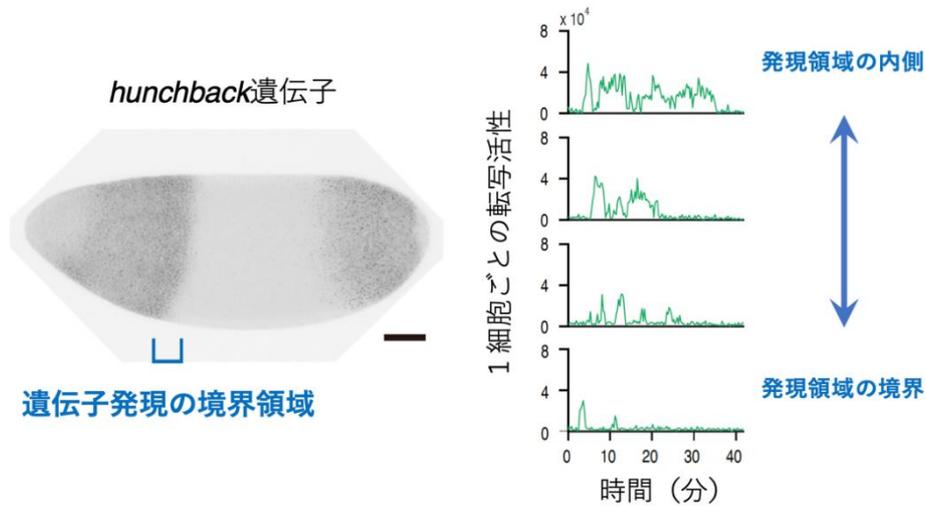


図1：空間的な遺伝子発現パターンは、細胞個々における転写バーストの連続性の違いによって生み出されていることが明らかとなりました。

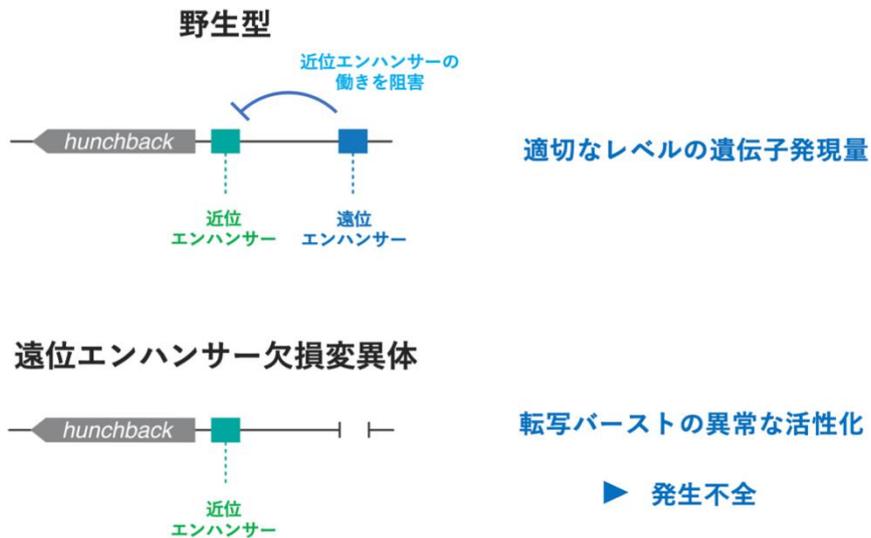


図2：一方のエンハンサーが、もう一方のエンハンサーによる転写バーストの誘導を抑制し、遺伝子発現量を適切なレベルに維持しています（上）。遠位エンハンサーが失われると、転写バーストの発生頻度が顕著に上昇し、遺伝子発現の空間パターンに異常が生じることが明らかとなりました（下）。