

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：22701

研究種目：学術変革領域研究(B)

研究期間：2021～2023

課題番号：21H05159

研究課題名（和文）転写ユニティー機構を構築する多因子間相互作用の網羅的解明

研究課題名（英文）Comprehensive elucidation of multifactorial interactions that establish the transcription unity mechanism

研究代表者

高橋 秀尚 (TAKAHASHI, Hidehisa)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号：30423544

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 42,000,000円

研究成果の概要（和文）：最近の研究によって、転写制御は従来考えられてきたようなモデルのみでは理解が困難であり、「転写プロセス全体が密な相互連携によって一体化（Unity: ユニティー）し、遺伝子発現を制御する機構」（転写ユニティー機構）の存在が強く示唆された。本研究では、転写ユニティー機構における多因子間相互作用において重要な役割を果たすことが強く示唆されるメディエーター複合体に着目し、これらの因子の本機構における役割を解明し、転写ユニティー機構の分子メカニズムを明らかにする。そして、多因子間相互作用による転写ユニティー機構を、分子から細胞、組織レベルまで解明する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は従来の転写研究では着目されてこなかった視点に基づいて転写制御機構を解明するものであり、学術的独自性が高く、未知の転写制御機構が解明されることが強く期待できる。また、最新の知見から、多因子間相互作用による転写ユニティー機構は、DNA修復や複製、細胞周期などの他の核内機能においても機能していることが考えられ、本研究の推進は転写研究と他の核内機能の研究を融合させた新たな研究分野の創造につながることを期待できる。

研究成果の概要（英文）：Our recent studies have suggested that transcription regulation is difficult to understand only by conventional models and that there is a mechanism in which the entire transcription process is unified by multifactorial interactions and regulates gene expression, which we called transcriptional unity mechanism. In this study, we focus on the Mediator complexes that are suggested to play an important role in the multifactorial interactions in the transcription unity mechanism, and elucidate the roles of these factors in this mechanism, and clarify the molecular mechanism of the transcription unity.

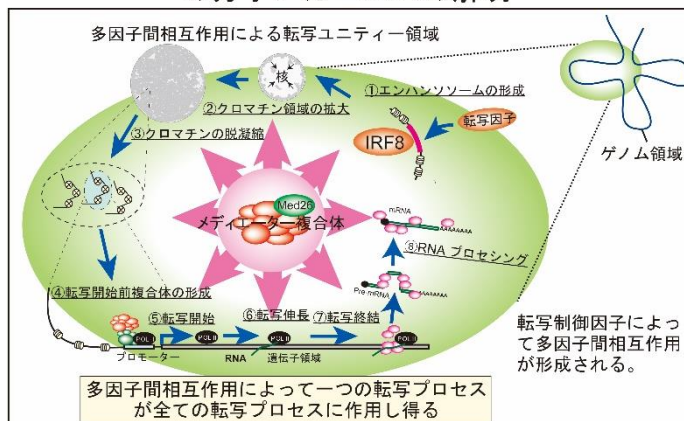
研究分野：分子生物学

キーワード：遺伝子発現 転写

1. 研究開始当初の背景

遺伝子発現の制御において、転写制御は最も重要な役割を果たしている。これまでの転写制御の研究では、核内で一連の転写プロセス（①転写因子と DNA からなる高次構造複合体エンハンソームの形成、②クロマチン領域の拡大、③クロマチンの脱凝縮、④転写開始前複体の形成、⑤転写開始、⑥転写伸長、⑦転写終結、⑧RNA プロセッシング）が連続反応によって進行し、RNA が合成されると考えられてきた(図 1 参照、青矢印)。そのため、転写プロセス毎の解析やそれらの個々の連携に焦点が当てられ、研究が進められてきた。

図 1: 多因子間相互作用による転写ユニティー機構の分子メカニズムの解明



ところが、我々の最近の研究によって、●遺伝子によっては、転写伸長や転写終結が遺伝子発現を決定するプロセスとなること (メディエーター複合体による①→⑥、⑦への作用 [Takahashi H, et al., Nat Commun, 11\(1\), 1063, 2020.](#) [Takahashi H, et al., Nat Commun, 6, 5941, 2015.](#) [Takahashi H, et al., Cell, 146\(1\), 2011](#))、●転写終結が破綻すると転写開始や転写伸長も抑制されること (メディエーター複合体による⑦→⑤、⑥への作用、未発表)、などがわかってきた。

2. 研究の目的

このように、我々の新しい知見から、転写プロセス全体が密な相互連携によって一体化し、遺伝子発現を制御する機構：転写ユニティー (Unity: 一体化) 機構 (図 1 参照、赤矢印) の存在が浮かび上がってきた。さらに、転写ユニティー機構では、多種多様な組み合わせの転写制御因子 (タンパク質、ゲノム DNA、RNA を含む) による相互作用 (多因子間相互作用) によって、転写プロセス全体が非常に密に連携し合っており、1 つの転写プロセスが他の全ての転写プロセスに影響し得る状態と考えられる。そこで本研究では、このような多因子間相互作用による転写ユニティー機構において重要な役割を果たすことが強く示唆されるメディエーター複合体に着目し、それらの因子の本機構における役割を解明する。このように、本研究では多因子間相互作用による転写ユニティー機構の分子メカニズムを明らかにすることで、その機構を分子から細胞、組織レベルまで解明する。

3. 研究の方法

本研究ではメディエーター複合体に着目し、多因子間相互作用の構成因子を *in situ* ビオチン化法によって網羅的に同定した。そして多因子間相互作用による転写ユニティー機構の分子メカニズムを分子構造～細胞レベルで解明し、最終的に転写ユニティー機構の細胞・組織における役割を解明する。

4. 研究成果

近年、ゲノムワイドな ChIP (クロマチン免疫沈降) シーケンスなどの解析により、遺伝子によっては、転写開始後に RNA ポリメラーゼ II (以下 Pol II) がプロモーター近傍 (転写開始点から 20~50 塩基下流) や転写終結領域で一時停止していることが明らかになり、遺伝子発現の制御において転写伸長や転写終結のプロセスが非常に重要な役割を果たしていることがわかってきた。Pol II のプロモーター近傍における一時停止の解除には、P-TEFb や ELL/EAF などの転写伸長因子の働きが必要である。我々はこれまでにメディエーター複合体のサブユニット MED26 が、その N 末端ドメイン (NTD) によって、転写伸長因子を P-TEFb や ELL/EAF を含む複合体 “Super elongation complex” (SEC) と結合し、c-Myc や Hsp70 などのがん関連遺伝子において、転写伸長を促進することを明らかにした [【Takahashi H, et al. Cell, 146\(1\), 92-104, 2011】](#)。SEC は ELL/EAF、P-TEFb に加え MLL 融合パートナー因子の AF4、AFF4、AF9 や ENL をサブユニットとして有し、混合型急性白血発症に深く関与している [【Lin C, Takahashi H, et al. Mol Cell, 37\(3\), 429-437, 2010】](#)。さらに、我々は MED26 の NTD と結合するもう一つの新規複合体 “Little elongation complex” (LEC) を同定した。LEC は転写伸長因子の ELL/EAF に加えて、ICE1、ICE2 をサブユニットとして有する。解析を行ったところ、MED26 を含むメディエーター複合体は LEC と結合することで、small nuclear RNA (snRNA) や複製依存性ヒストン遺伝子などの mRNA にポリ A を含まない遺伝子において、Pol II の転写終結を促進することを明らかにした [【Takahashi H, et al. Nat Commun, 6, 5941, 2015】](#)。この

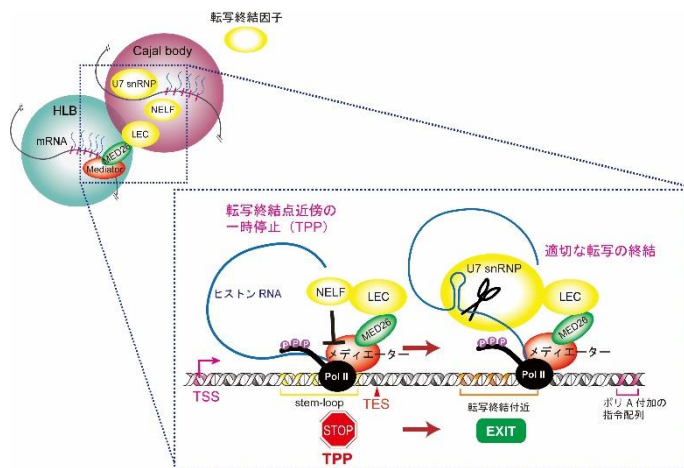
時、MED26 は LEC と共役することによって、ポリ A 付加シグナルの前に Pol II を一時停止させ、転写を終結させることで、mRNA にポリ A が付加されないように制御することが明らかとなった【Takahashi H, et al. *Nat Commun*, 11(1), 1063, 2020】。

また、ヒストン遺伝子と snRNA 遺伝子は、それぞれ細胞の核内の“場”である核内構造体 Histone locus body (HLB) と Cajal body (CB) において転写される。しかも、CB にはヒストン遺伝子の転写終結因子 (U7 snRNP や NELF など) が集積しており、CB と HLB は隣接会合して局在することがわかっていた。このことから、ヒストン遺伝子を含む HLB に CB が引き寄せられることによって、ヒストン遺伝子の転写終結が制御される可能性が予想された。本研究によって、MED26 を含むメディエーター複合体と LEC が、ヒストン遺伝子を含む HLB に CB を引き寄せることで、ヒストン遺伝子の転写終結領域で Pol II を一時停止させることが明らかとなった【Suzuki H, Takahashi H (責任著者), et al. *Nat Commun*, 13(1):2905, 2022】。

MED26 と LEC の相互作用を欠失させ、その協働機能を喪失させた変異型細胞を作製し解析を行ったところ、HLB と CB の会合が著しく低下すると共に、ポリ A 鎖の付加された異常なヒストン RNA が蓄積することがわかった。さらに、ヒストン遺伝子の転写終結領域近傍において、Pol II が一時停止していることが明らかとなり、この新規の一時停止を“TPP” (TES proximal pausing) と名付けた。この TPP には、メディエーター複合体と LEC との協働が必要であり、CB と HLB の会合によって TPP が引き起こされることも明らかとなった。このように TPP は転写終結領域でポリ A 鎖の付加を指令する配列直前に Pol II にブレーキをかけることで、RNA にポリ A 鎖が付加されないように調節する「ピットイン」の役割を果たしていることが明らかとなった (図 2 参照)。

また、多因子間相互作用の構成因子を網羅的に同定する手法として、抗体を用いた *in situ* ビオチン化法を確立し、核内構造体の CB や核小体、 γ H2AX foci の構成因子の同定を行ったところ、既知の因子に加えて多くの新規因子が同定された【*Cell Reports*, in revision】。

図 2: メディエーター複合体と核内凝集体による転写終結制御機構



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Suzuki H, Furugori K, Abe R, Ogawa S, Ito S, Akiyama T, Horiuchi K, Takahashi H	4. 巻 45(4)
2. 論文標題 MED26-containing Mediator may orchestrate multiple transcription processes through organization of nuclear bodies.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BioEssays	6. 最初と最後の頁 e2200178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/bies.202200178	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakai Y, Miyakawa K, Yamaoka Y, Hatayama Y, Nishi M, Suzuki H, Kimura H, Takahashi H, Kimura Y, Ryo A.	4. 巻 10(12)
2. 論文標題 Generation and Utilization of a Monoclonal Antibody against Hepatitis B Virus Core Protein for a Comprehensive Interactome Analysis.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 2381
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms10122381	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Abe E, Yamashita A, Hirota K, Yamaji T, Azushima K, Urate S, Suzuki T, Tanaka S, Taguchi S, Tsukamoto S, Uehara T, Wakui H, Tamura K, Takahashi H	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Angiotensin II type-1 receptor-associated protein interacts with transferrin receptor-1 and promotes its internalization.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 17376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-22343-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Hirose T, Sugitani Y, Kurihara H, Kazama H, Kusaka C, Noda T, Takahashi H, Shigeo Ohno	4. 巻 149(21)
2. 論文標題 PAR3 Restricts the Expansion of Neural Precursor Cells by Regulating Hedgehog Signaling.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Development	6. 最初と最後の頁 dev199931
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.199931	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kitamura K, Suzuki H, Abe R, Inohara H, Kaneda Y, Takahashi H, Nimura K	4. 巻 12(1)
2. 論文標題 Dual function of SF3B2 on chromatin and RNA to regulate transcription in head and neck squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Biosci	6. 最初と最後の頁 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13578-022-00812-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki H, Abe R, Shimada M, Hirose T, Hirose H, Noguchi K, Ike Y, Yasui N, Furugori K, Yamaguchi Y, Toyoda A, Suzuki Y, Yamamoto T, Saitoh N, Sato S, Tomomori-Sato C, Conaway RC, Conaway JW, Takahashi H	4. 巻 13(1), 2905
2. 論文標題 The 3' Pol II pausing at replication-dependent histone genes is regulated by Mediator through Cajal bodies' association with histone locus bodies.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nat Commun	6. 最初と最後の頁 1-24
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-022-30632-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 高橋秀尚	4. 巻 40(12)
2. 論文標題 Pol 動態の新常識 ポージングによる新たな転写制御機構	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 実験医学増刊	6. 最初と最後の頁 1910-1917
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Cheng D, Semmens K, McManus E, Chen Q, Meerzaman D, Wang X, Hafner M, Lewis A.B, Takahashi H, Devaiah N.B, Gegonne A, Singer S.D.	4. 巻 7(50)
2. 論文標題 The nuclear transcription factor, TAF7, is a cytoplasmic regulator of protein synthesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci adv.	6. 最初と最後の頁 eabi5751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abi5751.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakamoto M, Sasaki K, Sugie A, Nitta Y, Kimura T, Cinletti T, Iai M, Sengoku T, Ogata K, Suzuki A, Okamoto N, Iwama K, Tsuchida N, Uchiyama Y, Koshimizu E, Fujita A, Hamanaka K, Miyatake S, Mizuguchi T, Taguri M, Ito S, Takahashi H, Miyake N, Matsumoto N.	4. 巻 31(1)
2. 論文標題 De novo ARF3 variants cause neurodevelopmental disorder with brain abnormality.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Hum Mol Genet	6. 最初と最後の頁 69-81
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddab224.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Miyatake S, Kato M, Kumamoto T, Hirose T, Takahashi H, Tanaka F, Ogata K, Ohtaka-Maruyama C, Matsumoto N.	4. 巻 7(13)
2. 論文標題 De novo ATP1A3 variants cause polymicrogyria.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci adv.	6. 最初と最後の頁 eabd2368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abd2368.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 鈴木秀文, 高橋秀尚	4. 巻 93(6)
2. 論文標題 メディエーター複合体のコンポーネントMED26による新たな転写制御機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Japanese Biochemical Society	6. 最初と最後の頁 810-814
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木秀文, 阿部竜太, 嶋田美穂, 廣瀬智威, 廣瀬博子, 野口慶介, 池 陽子, 安井七海, 古郡華月, 山口雄輝, 豊田 敦, 鈴木 穰, 山本達郎, 斉藤典子, Shigeo Sato, Chieri Tomomori-Sato, Ronald C. Conaway, Joan W. Conaway, 高橋秀尚
2. 発表標題 Poll の一時停止および核体凝集体の制御におけるメディエーター複合体の役割.
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<https://ycu-molecularbiology.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	西山 晃 (Nishiyama Akira) (80589664)	横浜市立大学・医学部・准教授 (22701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------