

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020年度～2024年度
研究課題番号：20H05686
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
研究代表者氏名（ローマ字）：白髭 克彦（SHIRAHIGE Katsuhiko）
所属研究機関・部局・職：東京大学・定量生命科学研究所・教授
研究者番号：90273854

研究の概要：

本研究課題は、エンハンサー配列上に形成される巨大なタンパク質複合体、エンハンソームがどのように転写反応を制御しているのか解明することを目指すものである。特に、コヒーシンと呼ばれる DNA モーターがエンハンソーム中でどのように転写伸長反応を制御しているのか明らかにすることを、最大の目標としている。

研究分野：分子生物学

キーワード：染色体高次構造、転写伸長反応、モータータンパク質、コヒーシン、エンハンソーム

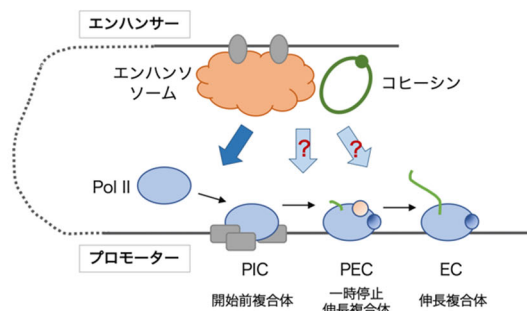
1. 研究開始当初の背景

真核細胞における遺伝子発現は、エンハンサー配列上に形成されるエンハンソーム複合体によって制御されることが多い。エンハンソームの機能は、RNA ポリメラーゼ II (Pol II) をプロモーター領域へリクルートすることだと一般に考えられている。私たちはこれまでの自身の研究結果に基づき、リクルートされた Pol II が伸長活性を持つ状態へと移行するステップにおいてもエンハンソームが機能していること、その機能においてコヒーシンが中心的役割を果たしていること、を考えている。コヒーシンの機能不全は、コヒーシン病（先天性の発生異常を伴う疾患）を引き起こすことが知られる。コヒーシンによる転写伸長制御は、発生のプロセスにおいて極めて重要な役割を持つことが示唆されていた。

2. 研究の目的

エンハンソームが転写伸長反応を制御するという仮説を実証すること、そしてそのメカニズムの詳細を理解することを目的とする。コヒーシン ATPase がこの転写伸長制御における主要な因子と考えており、コヒーシンに焦点を当てた解析を行う。コヒーシンによる転写伸長制御の破綻が、いかにしてコヒーシン病を引き起こすのか分子レベルで理解することも併せて目的とする。

図 エンハンソーム/コヒーシンによる転写制御
エンハンソーム中のコヒーシンがどのように伸長複合体の生成を制御するか解明することが本課題の目的である



3. 研究の方法

以下の4点を主たるアプローチとした研究を展開する。

- (1) 試験管内再構成系を用いたエンハンソームの機能解明
- (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明
- (3) エンハンソームの新規構成因子の探索
- (4) 転写制御異常という視座からのコヒーシン病の分子病態の理解

(1)(2) では、エンハンソームにおいてコヒーシスが果たす役割を、in vitro, in vivo の両面から解き明かすことを目指す。(2) では、ChIP-seq や Hi-C といったゲノム学的手法を活用することで核内のエンハンソームの構造・状態の可視化を行う。(3) では主に生化学的手法によってエンハンソームに含まれる新規因子を単離し、その解析を行う。(4) は以上で得られた知見をもとに、コヒーシンのような転写制御の破綻がいかんしてコヒーシン病という病態を引き起こすのか、その分子機序を理解しようとするものである。コヒーシン異常が引き起こす mRNA への影響を様々な観点で計測し、情報学的解析を加えることでこの目的を達成する。

4. これまでの成果

試験管内系と細胞を用いた実験の双方で、エンハンソーム中のコヒーシスが転写伸長反応を制御していることを示す結果を得ることができている。現在その成果を論文として発表するべく投稿準備をしているところである。また、その制御のメカニズムについても、ヒントとなる知見が集まってきている。これまでの結果から、「NELF タンパク質の Pol II への会合・脱離がコヒーシン ATPase により制御されている」という作業仮説が得られている。その実証を目指した実験を続けている。これまでの研究の過程から、核内 DNA の高次構造を高解像度で可視化する新技術、MicroChIP が開発できた。本研究課題にとどまらず、様々な研究にも適用できる有用な技術であると考えている。

5. 今後の計画

コヒーシンのような転写伸長制御のメカニズム解明を目指した実験を行う。上述のように、NELF が鍵となる因子であると考えており、NELF の CDK9 によるリン酸化修飾に着目した解析を行う。コヒーシスが DNA モーターであることから、DNA 局所構造を介した転写装置の制御という可能性も考えられる。In vitro 系において、電子顕微鏡や高速 AFM 活用した解析を行う。In vivo においては、これまでの研究で開発に成功した MicroChIP 法によって DNA 局所構造の可視化を行う。コヒーシンのような転写伸長制御の破綻がどうして発生異常（コヒーシン病）を引き起こすのかという点についても研究を行う。これまでの結果は、NELF による転写の一時停止がなくなることで RNA に何らかの品質異常が生じている可能性を示唆している。様々なゲノム学的手法によりその異常の実体を同定することを目指す。コヒーシンと協調的に機能すると考えられる因子として、BRD4, AFF4, ANKRD11 などが見つかってきている。これらの因子も対象とした研究を行い、エンハンソームの全貌解明へとつなげる。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

Codependency and mutual exclusivity for gene community detection from sparse single-cell transcriptome data.
Nakajima N, Hayashi T, Fujiki K, [Shirahige K](#), Akiyama T, Akutsu T, *[Nakato R](#).
Nucleic Acids Res. (2021) 49:e104

Functional control of Eco1 through the MCM complex in sister chromatid cohesion.
Yoshimura A, *[Sutani T](#), *[Shirahige K](#).
Gene. (2021) 784:145584

Transcription-dependent cohesin repositioning rewires chromatin loops in cellular senescence.
Olan I, Parry AJ, Schoenfelder S, Narita M, Ito Y, Chan ASL, Slater GSC, Bihary D, Bando M, [Shirahige K](#), Kimura H, Samarajiwa SA, *Fraser P, *Narita M.
Nat Commun. (2020) 11:604

7. ホームページ等

該当なし