


クロマチンを背景とした転写の構造基盤

	研究代表者	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー	
		関根 俊一 (せきね しゅんいち)	研究者番号：50321774
研究課題情報	課題番号	24H00062	
	キーワード	RNAポリメラーゼ、ヌクレオソーム、転写、クロマチン、クライオ電子顕微鏡	

なぜこの研究を行おうと思ったのか (研究の背景・目的)

●研究の全体像

ヒトを含む真核生物では、ゲノムDNAはクロマチン構造をとって細胞の核内にコンパクトに収納されている。クロマチンの基本単位はヌクレオソームと呼ばれる構造であり、多数のヌクレオソームが数珠つなぎに連なってクロマチンを形成している (図1)。転写や複製など、全ての遺伝的プロセスは、このようにクロマチン化されたDNA上で行われ、クロマチン構造によって巧妙に制御されている (エピジェネティック制御)。遺伝子発現において、DNAの塩基配列を読み取ってmRNAを合成するRNAポリメラーゼII (RNAP II) は、クロマチン化されたDNA上を進みながらmRNAを合成していく (図1)。しかしながら、RNAP IIがどのようにしてクロマチン構造を破壊せずにDNAを横断して転写を遂行できるのか、クロマチン構造と転写は互いにどのように影響を及ぼし合っているのか、その仕組みはよく分かっていない。本研究では、転写中に形成される高次の複合体の構造をクライオ電子顕微鏡を用いて高精細に可視化することで、クロマチン内での転写や制御の仕組みを明らかにする。

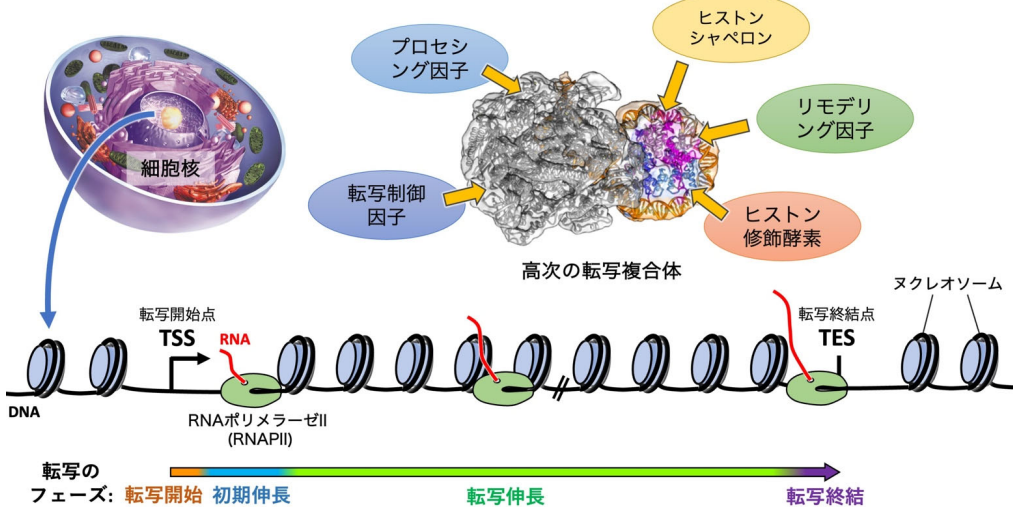


図1 クロマチン内での転写 (遺伝子発現)

●研究の背景

転写は、単なるRNAの重合反応ではなく、プロモーターからの転写の開始から、伸長、終結へと至る高度に制御されたプロセスである。各段階で、RNAP IIはヌクレオソームや様々なタンパク質 (転写因子やクロマチン因子等) と相互作用して巨大な転写複合体を形成し、クロマチンと相互作用しながら転写を遂行するが、その仕組みには未知の部分が多く残されている (図1)。例えば、RNAP IIはクロマチン構造を破壊することなくDNA上を横断し、転写を遂行することができる。また、RNAP IIの進行と同時に並行で、ヒストン修飾等によるクロマチンの活性化や mRNAの品質管理 (プロセッシング) が巧妙に行われている。しかし、これらの過程にどのような高次複合体が関与し、どのように機能を発揮しているのか、またその際に、RNAP IIとクロマチンがどのように影響を及ぼし合っているのか、その分子メカニズムはよく分かっていない。

●研究手法

近年急速な進歩を遂げたクライオ電子顕微鏡 (cryo-EM) 技術は、細胞内で形成される高次の複合体や、それらが働く姿を高分解能で可視化するのに有効な手法である。私たちのグループはこれまでに、RNAP IIによってヌクレオソームを転写させ、転写反応中に生成する巨大な複合体の構造をcryo-EMによって解析する先端的な技術を開発してきた (図2)。この手法を用い、転写の様々な局面で形成される複合体を再現して高分解能で解析することで、転写の各過程の分子メカニズムを解明する。

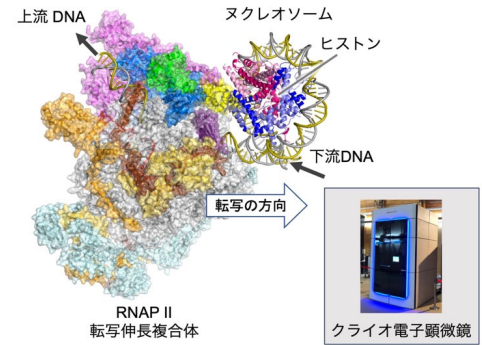


図2 クライオ電子顕微鏡を用いて得られたヌクレオソームを転写中の巨大な転写複合体の構造

●研究目的

ヌクレオソーム構造をとったDNA上で形成される機能的な転写複合体の構造解析を通して、クロマチン内での転写やエピジェネティック制御の背後にある分子基盤を高解像度で明らかにする。

この研究によって何をどこまで明らかにしようとしているのか

●クロマチンを背景とした転写の構造基盤

RNAP IIはクロマチン化されたDNA上を進みながら塩基配列を読み取っていくが、その際、ヌクレオソーム構造を失わず、巧妙に維持しながら転写を行っている (図3)。また、その過程でさまざまな役割を持った因子 (転写伸長因子、ヒストンシャペロン、リモデリング因子、ヒストン修飾酵素、RNAプロセッシング酵素等) がRNAP IIやヌクレオソームに多層的に結合し、クロマチン上での転写を助け、なおかつ、転写と同時に並行でヒストンの修飾やmRNAのプロセッシング等を行っている。本研究では、下にあげる各項目に焦点を絞り、それらに関与する因子を加味した機能的複合体を取得して構造・機能解析を行うことで、それぞれのプロセスに関わる分子の実体や相互作用を鮮明に描き出す。これにより、クロマチン環境での転写や制御の仕組みの包括的な理解につなげる。

- ① 転写に伴うクロマチン構造の維持
- ② 転写に伴うクロマチン構造の変換
- ③ チェックポイントにおける制御とmRNA品質管理
- ④ 細胞内の転写複合体

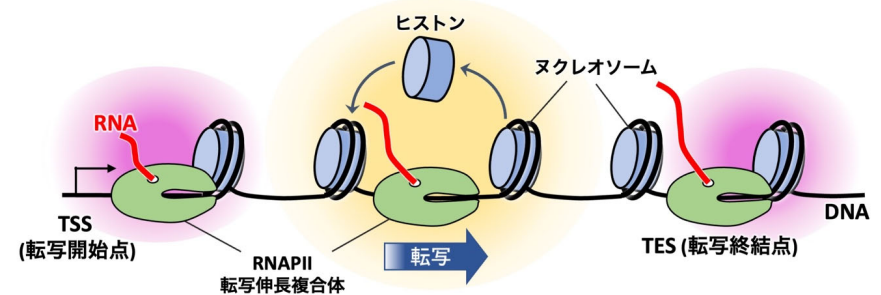


図3 クロマチンの転写の過程で形成される様々な複合体 (本研究における構造・機能解析のターゲット)