

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2018 年度採択研究者

2018 年度
実績報告書

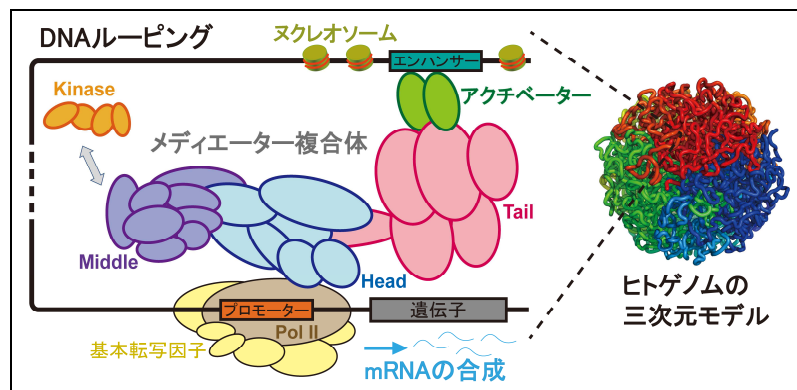
野澤 佳世

東京大学定量生命科学研究所
助教

遺伝子を活性化する DNA ルーピング機構の構造基盤の解明

§ 1. 研究成果の概要

本研究では長鎖 DNA を介した遺伝子制御機構（DNA ルーピング）を理解するために、エンハンサー・プロモーター相互作用の中核を担う転写メディエーター（Med）複合体と RNA ポリメラーゼ II（Pol II）、ヌクレオソーム、



アクチベーター・タンパク質群の調製方法を確立し、その立体構造を解明します。これらの材料を用いて、最終的には *in vitro* で DNA ルーピング状態を再現し、任意の長鎖 DNA の遺伝子制御機能を評価できるシステムを作りたいと考えています。

昨年度は、DNA ループのプロモーター側を可視化するために酵母の Med と Pol II の相互作用領域を調製し、ネガティブ染色電子顕微鏡で観察しました。測定に用いる架橋剤の条件検討を行った結果、構造解析に適した均一な粒子を観察できる条件を得ました。また、DNA ループを解除することで遺伝子発現をオフにする Med のキナーゼ・モジュールは、多くの疾病に関係していることが報告されています。昨年度は、応用研究を見据えて、ヒト由来のキナーゼ・モジュールを、昆虫細胞を用いて発現させました。今後は、キナーゼ・モジュールの収量を増やし、立体構造解析を試みる予定です。DNA ループのエンハンサー側の構成因子については、テール・モジュールの構成タンパク質の遺伝子それぞれを酵母の cDNA ライブラリーから単離し、発現系構築の準備を整えています。

§ 2 . 研究実施体制

研究者：野澤 佳世（東京大学定量生命科学研究所 助教）

研究項目

- ・転写メディエーターの発現系の構築
- ・内因性酵母RNAポリメラーゼIIの精製系の構築
- ・昆虫細胞でのヒト由来タンパク質の発現系の構築
- ・タンパク質のX線結晶構造解析
- ・タンパク質の電子顕微鏡解析
- ・再構成DNAループの遺伝子制御機構の解析