

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

2020 年度 年次報告書

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する。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る。

昨年度の大きな進展は、再現性良く高純度の分裂酵母 Pol II を調製できる系が構築され、ようやく DNA ループの構成因子が転写に与える影響を試験管内転写実験で評価できるようになったことである。昨年度は、この転写系に Med の機能最小単位である cMed を加えることによって、ヌクレオソーム・テンプレートの転写効率を評価した。その結果、申請者が調製した分裂酵母の Pol II と転写伸長因子の TFIIS が高い転写活性を有することが確認されただけでなく、cMed 存在下では Pol II がヌクレオソームを乗り越える効率が大きく促進されることが明らかになった。これまで Med がプロモーター以外の遺伝子コード領域や転写終結領域で検出された例はいくつも報告されていたが、その明確な理由は分かっておらず、Med の主な役割は、転写が開始するまで Pol II をプロモーターに繋ぎ留めておくというのが通説だった。しかし、本研究を通じて、もし Med が転写開始以降の「伸長」のフェイズで、クロマチン転写に積極的に関与していることが分かれば、大きな発見につながると思っている。今後は、Pol II の大量精製を行うと同時に、転写中の Pol II-ヌクレオソーム-Med のクライオ電子顕微鏡単粒子解析を精力的に進めて行きたいと考えている。

【代表的な原著論文情報】

1) Linker DNA and histone contributions in nucleosome binding by p53, *The Journal of Biochemistry*, vol. 168, No. 6, pp. 669-675, 2020.