

令和 2 年 10 月 15 日

転写は「液滴」によって制御されていた！

■ 概要

近年、細胞内には核小体⁽¹⁾(図1左上)のような膜のない構造体があることがわかってきました。膜のない構造体の多くは「液-液相分離⁽²⁾」と言われ、その実態は油と水の分離に見られる原理によって作られる「液滴」です。この液滴は、試験管内ならさまざまなタンパク質によって作られることが示されている一方で、細胞の中で「どのように液滴が作られるのか?」「その液滴の変化が細胞の機能にどのように結びつくのか?」は不明でした。

情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 井手聖助教、前島一博教授らの研究グループは、生きたヒト細胞の大きな液滴である核小体に着目し、その中に存在するリボソーム RNA 遺伝子(rDNA)⁽³⁾と、その転写装置である RNA ポリメラーゼ I⁽⁴⁾の振る舞いを、超解像蛍光顕微鏡⁽⁵⁾を駆使して分子レベルで詳しく観察することに成功しました。その結果、液滴である核小体において、rDNA の転写⁽⁶⁾が停止することにより、新たな液滴が作られることがわかりました(図1)。重要なことに、ヒト遺伝性疾患の原因となる変異型 RNA ポリメラーゼ I によっても、転写が停止して、同じような液滴が作られることがわかりました。

本研究により、RNA ポリメラーゼ I の変異が液滴の変化を起こし、リボソーム合成異常に起因するヒト遺伝性疾患を引き起こすことが明らかとなりました。本研究によって、今後、このような細胞の異常や関連疾患の理解が進むことが期待されます。また、生きた細胞内で分子の動きを追跡できる超解像蛍光顕微鏡が細胞内のさまざまな液滴を調べる上で有効であることがわかりました。

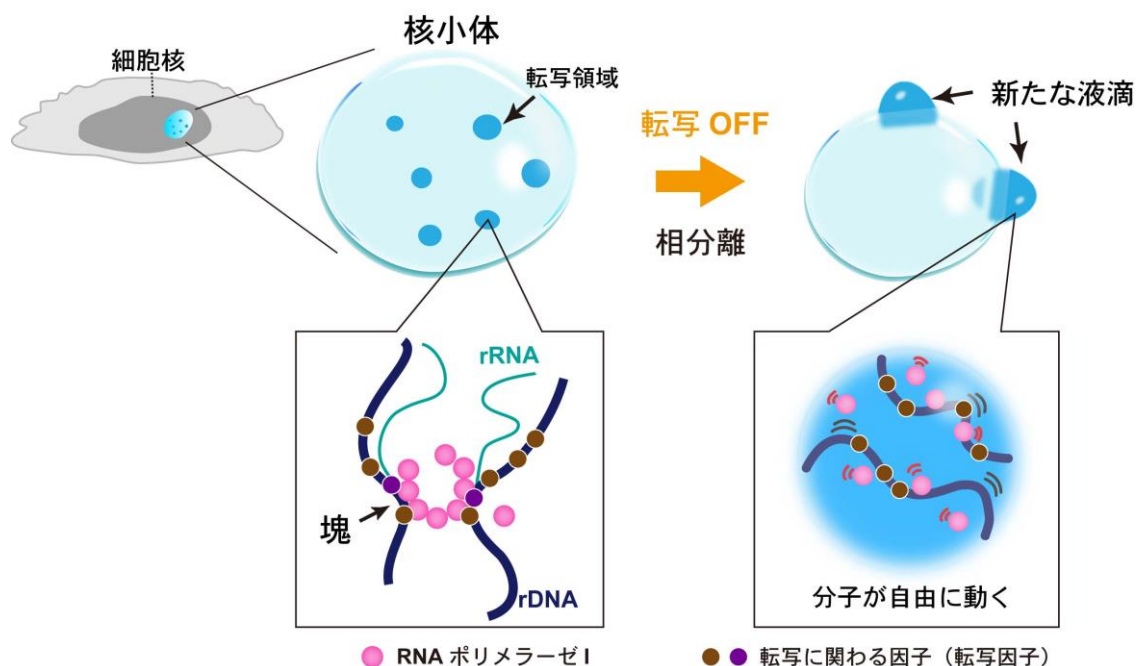


図 1: (左上)細胞の核の中にある液滴である核小体(水色)。(左)リボソーム RNA (rRNA) の転写が行なわれているときは、rRNA 遺伝子(rDNA)と RNA ポリメラーゼ I が液滴全体に散らばっている(青色)。(左下)RNA ポリメラーゼ I(ピンク)が遺伝子(紺色曲線)上で塊を作る。(右)転写が抑えられると、散らばっていた RNA ポリメ

ーゼ I や rRNA 遺伝子が集まり、新たな液滴ができる。(右下)液滴の中では RNA ポリメラーゼ I が rDNA から外れ、共に自由に動き回る。

■ 成果掲載誌

論文タイトル: Transcriptional suppression of ribosomal DNA with phase separation
(相分離に伴うリボソーム RNA 遺伝子の転写抑制)

著者: Satoru Ide, Ryosuke Imai, Hiroko Ochi, and Kazuhiro Maeshima
(井手聖、今井亮輔、大地弘子、前島一博)

DOI: <https://doi.org/10.1126/sciadv.abb5953>

■ 研究の詳細

● 研究の背景

細胞の内部は膜によって仕切られた部屋(構造体)が存在し、それぞれが役割を担っています。一方で、近年、細胞内には核小体(図1左上)のような膜のない構造体があることがわかってきました。こうした膜のない構造体の多くは液-液相分離と言われる油と水の分離に見られる原理によって作られる液滴のようなものと考えられています。さまざまなタンパク質が試験管内で液滴を作ることが示されている一方で、細胞の中で実際にどのように液滴が作られるのか? その液滴の変化が細胞の働きにどのように結びつくのか? は不明でした。とりわけ、タンパク質合成を担うリボソームを作る核小体は大きな液滴であることが知られていましたが、その大きな液滴の中でリボソーム RNA 遺伝子(rDNA)やその転写装置である RNA ポリメラーゼ I がどのような振る舞いをしているのかはわかっていませんでした。その理由は、rDNA や RNA ポリメラーゼ I が核小体の液滴中の数百ナノメートル⁽⁷⁾という非常に限られた場所(図1左、青色に塗った転写領域)に集まっていて、従来の光学顕微鏡ではそれらの振る舞いを直接観察することが困難だったためです。

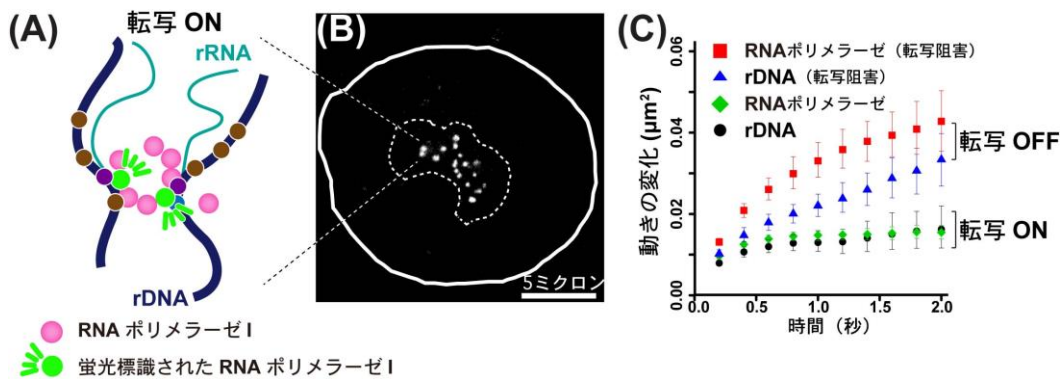


図2: (A) 蛍光でとびとびに標識された RNA ポリメラーゼ I (緑色蛍光のボール)。個々のポリメラーゼ分子の動きを調べることができる。(B) 超解像蛍光顕微鏡による細胞核内にある核小体液滴(破線)の RNA ポリメラーゼ I 分子の画像。個々のドットが各々の RNA ポリメラーゼ I 分子を表している。(C) 転写を止めると rDNA (青点) と RNA ポリメラーゼ I (赤点) の動きが大きくなる。転写が行われている通常状態での両分子の動き (RNA ポリメラーゼ I が緑点、rDNA が黒点) は抑えられ、非常によく似ている。分子の動きは「平均二乗変位」⁽⁸⁾ という量によって表されている。

● 本研究の成果

本研究グループがこれまで確立してきた生きた細胞のなかで分子1個1個を見ることができる超解像蛍光顕微鏡を用いて、rDNA や RNA ポリメラーゼ I の振る舞いを分子レベルで詳しく観察することに成功しました(図2 A、2B)。核小体液滴内に散らばった RNA ポリメラーゼ I は、転写が行われている状態では rDNA 上に集まって塊を作り、rDNA が動かないようにおさえています(図1左、図2C 緑点と黒点)。一方で、RNA ポリメラーゼ I の阻害剤を加えると、RNA ポリメラーゼ I の塊はずれ、rDNA とともに流動的になり、核小体液滴のへりに新たな液滴としてたまっていました(図1右、図2C 赤点と青点)。また、ヒト遺伝性疾患の原因となる変異した RNA ポリメラーゼ I によっても、同様に転写が停止して同じような液滴が作られました(図3中央)。このとき、転写に必要なタンパク質(転写因子⁽⁹⁾)が液滴から追いだされるため、転写が完全に止まることになりました(図3中央)。もともと大きな液滴である核小体において新たな液滴ができ、それが転写を制御することが明らかになったのです。

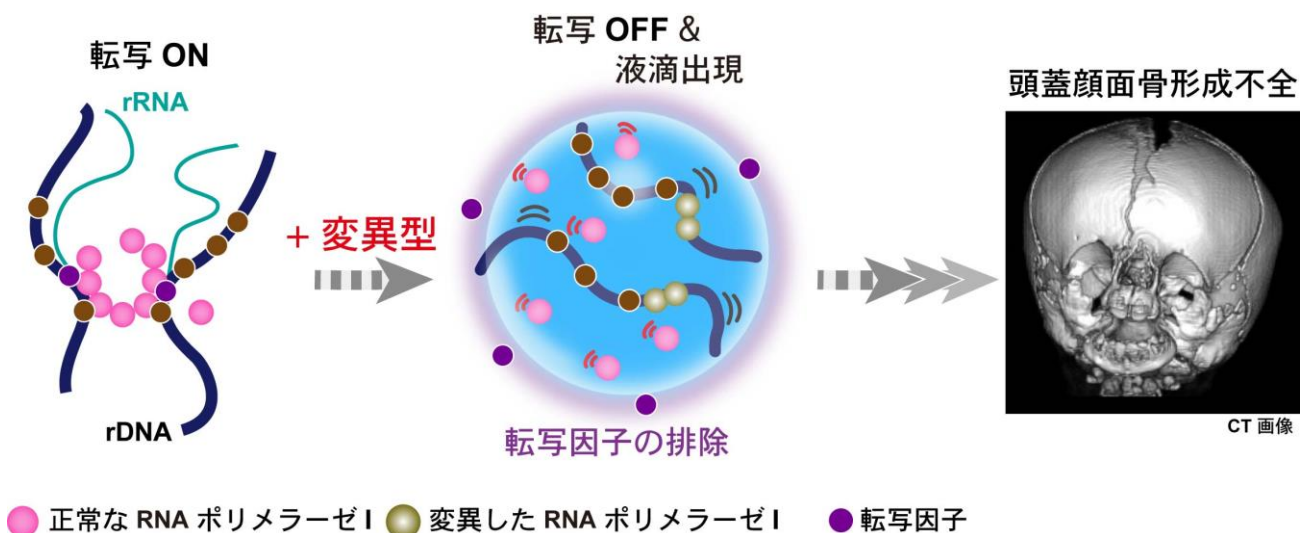


図3: ヒト遺伝性疾患の原因となる変異した RNA ポリメラーゼ I を発現させると、阻害剤を投与した時と同様に液滴である核小体の中に新たな液滴が作られる(中央)。その際、転写に必要なタンパク質(紫色のボール)が液滴から追いだされる(中央)。そのため液滴内に残る rRNA 遺伝子と正常な RNA ポリメラーゼ I による転写は起きない。このように生じるリボソーム合成過程の異常がトリーチャー・コリンズ症候群⁽¹⁰⁾などに見られる頭蓋骨や顔の骨の形成不良を引き起こすと考えられる(右、上あごと下あごの形成異常を表す。画像提供: Cincinnati Children's Hospital Medical Center・K. Nicole Weaver 博士)。

● 今後の期待

本研究によって、生きた細胞内で分子の動きを追跡できる超解像蛍光顕微鏡が、細胞内のさまざまな液滴を調べる上で非常に有効であることが示されました。また、RNA ポリメラーゼ I の変異が液滴に変化を起こし、リボソーム合成の異常に由来する遺伝性疾患を引き起こすことが明らかとなりました。本成果により、今後、このような細胞の異常や関連疾患の理解が進むことが期待されます。

また、細胞内に入った抗がん剤などの薬剤は細胞内全体に広がるのではなく、液滴内に集中してたまることになってきています。そのため、標的となるタンパク質が液滴内にあるのか、ないのかによって薬剤の効き目が左右される可能性が考えられ、その効き目の見極めはより効果の高い抗がん剤などを開発するために重要です。本技術はその見極めにつながることを期待できます。

■ 用語解説

(1)核小体

光学顕微鏡で明瞭に観察できる核内構造体で、ここでタンパク質の合成を担うリボソームが作られる。

(2)液-液相分離

溶液が均一に混じり合わず、水と油のように二つの相に分離する現象で、分離して丸くなった集合体は液滴、またはドロプレットとよばれる。

(3)リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA)

RNA 情報を基にアミノ酸を連結しタンパク質を合成するリボソームの部品をコードする遺伝子。

(4) RNA ポリメラーゼ I

リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) の塩基配列を読み取って相補的なリボソーム RNA (rRNA) を合成する反応 (転写) する際、中心となって働く巨大なタンパク質複合体。

(5)超解像蛍光顕微鏡

通常の光 (可視光) を用いて顕微鏡観察する場合は、200 ナノメートル (1 メートルの 10^9 乗分の 1) 程度の大きさのモノを解像するのが限界 (光の回折限界) です。しかし、超解像蛍光顕微鏡はこの限界を超えて (超解像)、より小さな構造まで観察することができます。本研究では、まばらに蛍光で標識した転写因子 (図1、図2、図3の茶色ボールで示す rDNA に安定に結合するタンパク質) を頼りに rDNA の分子の動きを追跡し、また同じ方法で標識した RNA ポリメラーゼ I の部品の一つを指標に、巨大なポリメラーゼ分子の動きを1個1個分けて追跡できるようにしました。

(6)転写

生物のゲノム DNA の塩基配列 (主に遺伝子) を基に、RNA (転写産物) を合成すること。遺伝情報が読み出されるための過程。ここでは特に RNA ポリメラーゼ I が核小体内のリボソーム RNA 遺伝子を基にリボソーム RNA を合成する過程を指す。

(7)ナノメートル

1 メートルの 10^9 乗分の 1 (10^{-9})。

(8)平均二乗変位

ある時間の中に粒子が移動した距離の二乗を平均した量。この量は、粒子が動く程度を表現するために使われる。

(9)転写因子

DNA の遺伝情報を RNA に転写する際、その転写が始まる付近の DNA 配列に結合するスイッチタンパク質。DNA 上の転写を制御する領域に結合し、転写を促進する。図1、図2、図3の茶色と紫色のボール。

(10)トリーチャー・コリンズ症候群

約5万の出生に 1 人が発症するといわれる先天異常症候群。頭蓋骨や顔とあごの骨の形成に異常をきたす。多くの場合リボソーム RNA の転写に関わる遺伝子内に原因変異が見つかっている。

■ 研究体制と支援

本研究は、国立遺伝学研究所・ゲノムダイナミクス研究室の井手聖助教、大地弘子研究支援員、今井亮輔元総研大生、前島一博教授の共同研究成果です。

本研究は科学技術振興機構(JST) 戦略的創造研究推進事業(CREST) (JPMJCR15G2)、文部科学省科学研究費補助金・新学術領域研究「クロマチン潜在能」(JP19H05273)、科学研究費補助金(JP16H04746、JP15K18580、JP15H01361、JP16H04746)および武田科学振興財団の支援を受けて行われました。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室
教授 前島 一博 (まえしま かずひろ)
TEL: 055-981-6864 メール: kmaeshim[at]nig.ac.jp
ホームページ: <http://maeshima-lab.sakura.ne.jp>
- 国立遺伝学研究所 ゲノムダイナミクス研究室
助教 井手 聖 (いで さとる)
TEL: 055-981-6878 メール: satide[at]nig.ac.jp
ホームページ: <http://maeshima-lab.sakura.ne.jp>

<JST 事業に関すること>

- 科学技術振興機構 戦略研究推進部
保田 睦子 (やすだ むつこ)
TEL: 03-3512-3524 メール: crest[at]jst.go.jp

<報道担当>

- 国立遺伝学研究所 リサーチ・アドミニストレーター室 広報チーム
TEL: 055-981-5873 メール: infokoho[at]nig.ac.jp
- 科学技術振興機構 広報課
TEL: 03-5214-8404 メール: jstkoho[at]jst.go.jp