

24. 高次定量イメージングによる転写動態制御機構の解明

九州大学生体防御医学研究所 教授 落合 博

概要

本研究では、高次定量イメージング技術を駆使して、細胞核内における遺伝子転写動態の制御メカニズムの解明を目的とした。マウス胚性幹(ES)細胞をモデルに、特定遺伝子の転写活性状態と周辺の複数因子の空間分布を単一細胞レベルで同時に解析した。これにより、転写が ON 状態にある細胞では、複数の転写関連因子が当該遺伝子座近傍に集積する傾向が明らかとなった。一方、転写 OFF 状態ではこれら因子の局在は分散しており、この差異から転写活性と核内空間構造の密接な関連が示唆された。

背景および目的

多細胞生物における遺伝子発現は、ゲノム上遠位にあるエンハンサーとプロモーターの相互作用やクロマチン上の様々なタンパク質因子によって精密に制御される。転写は転写因子の DNA 結合、ヒストン修飾と補因子リクルート、エンハンサー・プロモーター間の接触、転写開始・伸長といった「転写の一連の流れ」に沿って進行すると考えられている。一方で、個々の遺伝子の転写活性は時間的に一定ではなく、ON (活性) 状態と OFF (不活性) 状態が確率的に切り替わる動的なバースト現象として知られる(1)。この転写バーストの制御機構を解明することは、遺伝子発現制御の理解に極めて重要である。しかし、エンハンサー・プロモーター間の立体構造的な近接や転写関連因子のクラスター形成など、核内空間における分子配置と転写動態の関連は未解明の部分が多い。近年、空間マルチオミクス技術の発展により、空間情報を保持したまま複数の分子指標を同時測定することが可能となってきた。本研究ではこの先端的手法を活用し、単一細胞で転写活性と複数の転写制御因子・ゲノム領域の同時可視化を行うことで、転写動態制御機構の解明を目指した。

方法

高深度多重標識イメージング法 (DNA/RNA/immuno-sequential FISH(seqFISH)) (2)を用いて固定細胞中の複数分子を可視化した。具体的には、マウス ES 細胞において、特徴的な転写動態を示す内在性の標的遺伝子とその相互作用するゲノム領域を DNA-FISH により標識した上で、標的遺伝子および周辺遺伝子の mRNA を RNA-FISH により可視化し、さらに転写の「流れ」に関与すると考えられる複数の転写関連因子 (例: ヒストン修飾酵素、転写補因子、転写開始因子など) を順次免疫染色した。これらの多元的な指標の空間情報を同時に取得することで、単一細胞内で標的遺伝子の転写 ON/OFF 状態、高次ゲノム構造 (エンハンサーとの位置関係など) と多数の因子分布を定量的に解析した。

結果および考察

高次イメージングにより、単一細胞内で標的遺伝子座とその転写産物、複数のタンパク質因子の位置情報を取得することに成功した。解析の結果、標的遺伝子が転写 ON 状態にある細胞では、核内で当該遺伝子座近傍に集

積する転写関連因子の数やシグナル強度が OFF 状態に比べて有意に高いことが明らかになった。言い換えると、転写が活性化している遺伝子領域では、転写補因子や特定のヒストン修飾など複数の因子がその遺伝子の周囲に局在し、クラスターを形成している様子が観察された。これに対し、遺伝子が不活性な状態ではこれら因子は当該領域に集積する傾向が低いことがわかった。また、転写 ON 時には標的遺伝子とその上流域との空間的距離が短縮する傾向も見いだされ、転写活性化に伴うゲノム領域間の近接化が示唆された(3)。

以上の結果から、遺伝子が活発に転写を行う際には、その座位に転写関連因子が集合する「転写ハブ」が形成されることが示唆される。このような因子集積は転写効率を高め、転写バーストの持続や安定化に寄与している可能性がある。実際、我々の以前の研究でも、転写補因子 BRD4 や RNA ポリメラーゼ II ラージサブユニットである RPB1 が転写活性時に遺伝子近傍でクラスターを形成し集積することが報告されており、本研究の観察結果と整合する(4)。さらに本研究では、エンハンサー候補領域と遺伝子との近接性変化も検出されており、エンハンサー・プロモーター間相互作用の動態と転写活性の関連を支持する知見となった。以上の知見は、3 次元ゲノム構造と転写制御因子の局在が相互に関連して転写動態を制御している可能性を示す。今後は、生細胞単一遺伝子イメージングによるリアルタイムでの因子動態解析と本研究の多次元データを統合することで、転写開始に先立つ因子集積のタイミングや因果関係をさらに詳細に解明し、遺伝子特異的な転写制御機構の全体像に迫る予定である。

(完)

発表論文

- 1) Hiroaki Ohishi, Soya Shinkai, Hitoshi Owada, Takeru Fujii, Kazufumi Hosoda, Shuichi Onami, Takashi Yamamoto, Yasuyuki Ohkawa, Hiroshi Ochiai. Transcription-coupled changes in genomic region proximities during transcriptional bursting. *Sci. Adv.* 10, eadn0020 (2024).

引用文献

- 1) Ochiai, H. et al. Genome-wide kinetic properties of transcriptional bursting in mouse embryonic stem cells. *Sci Adv* 6, eaaz6699 (2020).
- 2) Takei, Y. et al. Integrated spatial genomics reveals global architecture of single nuclei. *Nature* 590, 344–350 (2021).
- 3) Ohishi, H. et al. Transcription-coupled changes in genomic region proximities during transcriptional bursting. *Sci. Adv.* 10, eadn0020 (2024).
- 4) Ohishi, H. et al. STREAMING-tag system reveals spatiotemporal relationships between transcriptional regulatory factors and transcriptional activity. *Nat Commun* 13, 7672 (2022).