

## 平成20年度 研究戦略プロジェクト事業 研究成果報告書

平成21年6月30日

公立大学法人横浜市立大学  
理事長 様

平成20年度研究戦略プロジェクト事業（W20006）で行った研究成果等は下記のとおりです。

記

<b>1 研究者情報</b>	研究代表者氏名 (所属・職位)	笠原 浩司 (国際総合科学研究科・助教)			
	<b>2 事業情報</b>	新規・継続の分け			
	研究費の区分	若手人材育成推進費 (自然科学)			
	研究課題名	出芽酵母HMO1タンパク質によるリボソームタンパク質遺伝子の転写制御機構の解析			
	研究実施期間	平成20年7月1日 ~ 平成21年3月31日			
	研究ユニットの構成  ※研究代表者も含む ※研究計画書と相違のないようにご注意ください。	所属名・企業名等	役職名	氏名	役割

### 3 研究概要

真核生物のリボソームの構成因子（リボソームタンパク質[RP]とリボソームRNA[rRNA]）は、増殖時には細胞内のタンパク質及びRNAの数+%を占め、その合成は3種類のRNAポリメラーゼによって行われる（Pol Iは5.8S, 18S, 25S rRNA、Pol IIはmRNA、Pol IIIは5S rRNAをそれぞれ転写する）。このように異なるRNAポリメラーゼによる大量かつ他種類の遺伝子の転写を協調的に制御する機構については多くが不明である。本研究ではRP遺伝子の転写因子として知られるHMO1の欠失により、HMO1が強く結合するRP遺伝子の転写開始点が上流にシフトするという知見をもとに、そのメカニズムの解明を通してRP遺伝子の転写制御機構の分子レベルでの理解を目指す。

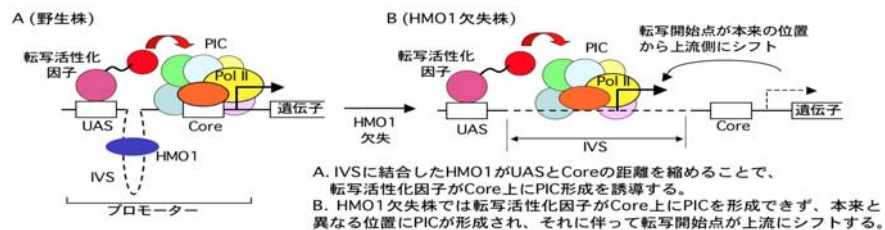
## 4 研究成果

※研究成果については、2,000 字程度で記入して下さい。(絵、図入りも可)

※地域貢献促進費の方は課題提案者に提出する報告書(必須)をご提出頂きますので、この欄は記載しないで結構です。その他の方は別紙を用意せず、この枠の中に記入するようにして下さい。(枚数は問いません)

申請者は、昨年度までに出芽酵母の HMGB タンパク質である HMO1 の全ゲノム上の標的遺伝子を網羅的に同定し、その結果 HMO1 が約 rRNA 遺伝子の 35S rRNA コーディング領域全体、及び約 70 %の RPG プロモーターに特異的に結合することや、HMO1 が結合する RPG では FHL1 が HMO1 依存的に、HMO1 が結合しない RPG では HMO1 非依存的に結合することを明らかにし、従来画一的な制御を受けると考えられてきた RPG が多様な制御を受ける可能性を示した。加えて、HMO1 が強く結合する RPG 遺伝子では、HMO1 の遺伝子破壊により、その転写開始点が上流にシフトするという興味深い現象を見いだしてきた。本年度は昨年を引き続き、これらの知見を発展させることで、目的とする HMO1 による RPG の転写制御機構を明らかにするべく、研究を行った。

申請者は HMO1 の結合量の違いによって RPG を 2 群に大別し、それぞれの代表として HMO1 結合の多い *RPS5* 遺伝子と少ない *RPL10* 遺伝子のプロモーターを選び、これらを部分的に入れ替えたキメラプロモーターについて詳細な ChIP 解析を行った結果、HMO1 の結合量を決定しているのは上流活性化配列(UAS)やコアプロモーター配列(Core)ではなく、その間に介在する機能不明の配列(IVS: Intervenening Sequenceと命名)であることを見いだした。*RPS5* の IVS は約 310bp からなるが、それを 2 つ重複して持たせ、UAS と Core の距離を約 620bp に広げた改変型プロモーターを作成したところ、HMO1 がある場合には UAS はこの距離を克服し、Core 内にある本来の開始点からの転写を促進することができた。しかし HMO1 を欠失させると本来の開始点からの転写は 1/10 程度に低下し、上流の IVS 内に新たな転写開始点が生じた。このとき ChIP 法を用いて PIC の形成位置を調べたところ、HMO1 欠失株では PIC の形成位置が上流側に大きくシフトしていた。一方、IVS を短縮し UAS と Core の距離を短くした改変型プロモーターでは、HMO1 欠失による転写開始点への影響はほとんど見られなくなった。これらの結果は、HMO1 が IVS に結合して UAS と Core の物理的な距離を縮めることで、UAS に結合した転写活性化因子が Core 内の適切な位置に PIC を形成させるのを助ける働きを持つことを強く示唆している(下図)。HMO1 結合が多い RPG プロモーターでは、それが少ない RPG プロモーターに比べ UAS と Core の距離が長い傾向にあることも統計的に明らかになっており、このことは上記仮説を支持するものだと考えられる。HMO1 欠失株で見いだされた転写開始点の上流へのシフトは、このような仕組みが機能せず、転写活性化因子が UAS からより近い範囲内に PIC を形成するようになったことに起因すると考えられる。酵母において転写開始点の異常を引き起こす既知の変異としては、Pol II のサブユニット(*rpb2*, *Δrpb9*)、TFIIF(*tfg1*, *tfg2*)の変異(共に上流へのシフト)や、Pol II(*rpb1*)、TFIIB(*sua7*)の変異(共に下流へのシフト)が知られているが、これらの変異による転写開始点の異常は全て転写開始前複合体(PIC)形成以後の段階における Pol II 活性の変化に起因すると考えられており、PIC の形成位置には変化は見られなかった。申請者が見いだした上記のような機序による転写開始点の異常は世界で初めての報告であり、現在は本研究で明らかになった HMO1 の新しい機能についてより詳細かつ多角的な検証を進め、近日中に論文として報告する予定である。近年、リボソームの量や活性が、細胞の成長や分裂のタイミング、その他の様々な生物現象と密接に関与することが次々に明らかになり、その生合成の制御の重要性が認識されつつある。このような制御機構の全容解明を目標に引き続き研究を継続していきたいと考えている。



## 5 研究成果の活用（予定）

例) 平成 22 年度 科学研究費補助金（基盤 S）に申請予定

例) 第〇会 〇〇学会に論文発表予定

例) 研究成果が横浜市〇〇事業に活用され、当該事業の PR イベントが開催された際に広報チラシ等に「横浜市立大学 研究戦略プロジェクト事業」との関連を記載した。

- ・ 近日中に論文投稿に必要なデータを揃え、なるべく早い時期の投稿を目指す。
- ・ 本研究は既に 2009 年度の科研費（若手研究(B)）に採択されているが、研究の継続と発展のために民間の研究助成への申請を随時行っていく予定である。

※ページ数は増えても構いません。

以上