

44. 転写伸長制御因子 Med26 による遺伝子発現制御機構の解明

高橋 秀尚

*北海道大学 大学院医学研究科 生化学講座 医化学分野

Key words : 遺伝子発現, 転写伸長, RNA ポリメラーゼ II, メディエーター

緒言

近年のゲノムワイドな ChIP (クロマチン免疫沈降) や RNA シークエンス解析により、非常に多くのヒトの遺伝子 (約 30% と示唆される) で、転写開始直後に RNA ポリメラーゼ II (Pol II) がプロモーター近傍 (転写開始点の 20~50 塩基下流) で一時停止していることが明らかになり、遺伝子発現の制御で転写伸長のプロセスが重要な役割を果たしていることがわかってきた。Pol II の一時停止は原がん遺伝子 *c-Myc* を始め、発現の迅速あるいは同調した誘導が必要な熱ショック遺伝子 *Hsp70*、血清応答性遺伝子や発生制御遺伝子など、非常に多くのヒト遺伝子においてみられる。Pol II の一時停止が解除され Pol II が新生 RNA の合成を再開するためには P-TEFb や ELL/EAF などの転写伸長因子の働きが必要である。ところが、これらの転写伸長因子が、どのようにして特定の遺伝子領域に時期特異的にリクルートされるのかについて未知であった。私はメディエーター複合体 (Mediator) のサブユニット Med26 が、その N 末端ドメイン (NTD) によって、転写伸長因子複合体 Super elongation complex (SEC) を *c-Myc* や *Hsp70* などのタンパク質をコードする遺伝子領域にリクルートし、転写伸長を促進することを明らかにした¹⁾。SEC は転写伸長因子の ELL/EAF、P-TEFb に加え MLL 融合パートナー因子の AF4、AFF4、AF9 や ENL をサブユニットとして有し、混合型急性白血病 (Mixed lineage leukemia) の発症に深く関与している²⁾。

さらに、私は Med26 の NTD に結合するもう一つの転写伸長因子複合体 Little elongation complex (LEC) を同定した。LEC は転写伸長因子 ELL/EAF に加えて、機能未知の ICE1 や ICE2、ZC3H8 をサブユニットとして有す。興味深いことに、Med26 は LEC を small nuclear RNA (snRNA) などの non-coding RNA 遺伝子領域にリクルートし、それらの発現を制御することがわかった³⁻⁴⁾。このように Med26 は、遺伝子領域で Pol II に手渡す転写伸長因子複合体 (SEC と LEC) を使い分けることによって、異なる遺伝子の発現を制御する可能性が示唆された。

本研究の遂行によって、Med26 と LEC が、snRNA 遺伝子だけではなく、複製依存的ヒストン (Replication dependent Histone) 遺伝子の転写制御にも機能することがわかった。snRNA 遺伝子やヒストン遺伝子の mRNA は、通常はポリ A デニル化 (ポリ A 付加) されない。このことから、Med26 と SEC はポリ A を有する遺伝子の mRNA の転写を制御し、Med26 と LEC はポリ A の無い mRNA の転写を制御する可能性が考えられ、Med26 と LEC は転写を正常に終結させることによって、mRNA へのポリ A の付加を抑制している可能性が考えられる。

方法

- SEC がポリ A のある遺伝子を制御し、LEC がポリ A のない遺伝子を特異的に制御するのかについての解明
 - Med26 と SEC をノックダウンすることで、通常のポリ A のある遺伝子の発現が変動するのかについて明らかにする。
 - Med26 と LEC をノックダウンすることで、複製依存的ヒストン遺伝子の mRNA にポリ A が付加されるのかについて解明する。
 - Med26 と LEC をノックダウンすることで、snRNA の mRNA にポリ A が付加されるのかについて解明する。
 - Med26 と LEC をノックダウンすることによって、転写が正常に終結されずに転写の Read through (読み過ぎ) が生じ、ポリ A が異常に付加されてしまう遺伝子群を RNA シークエンス解析によって網羅的に明らかにする。

結果および考察

SECによって制御される遺伝子を網羅的に解明するために、Med26とSECのサブユニットAFF4をノックダウンした細胞を用いてRNAシーケンス解析を行った。すると、Pol IIがプロモーター近傍で一時停止しているような遺伝子、*c-Myc*、*Snail2*、*Hsp70*などの遺伝子の発現が特異的に低下することがわかった。このことから、Med26とSECは共役して、これらの腫瘍関連遺伝子の発現を制御することがわかった。

ところで、複製依存的ヒストン遺伝子やsnRNA遺伝子のmRNAは、通常はポリA付加されないように制御されている。ところが、転写が正常に終結されずにPol IIのRead through（読み越し）が生じると、mRNAがポリA付加シグナルを含んでしまい、mRNAにポリAが付加されてしまう。私はLECによって制御される遺伝子を明らかにするために、Med26とLECのサブユニットICE1をノックダウンして、RNAシーケンスの解析を行った。すると興味深いことに、複製依存性ヒストン遺伝子の転写が正常に終結されず、mRNAにポリAが付加されることがわかった。ところが、SECのサブユニットのAFF4をノックダウンしても、複製依存性ヒストン遺伝子のmRNAにポリAは付加されなかった（図1）。現在、snRNA遺伝子についても同様の解析を行っているが、snRNA遺伝子はmRNAの長さが非常に短いことから、通常のRNAシーケンスの解析では解明が困難であり、解析方法の改良を行っているところである。

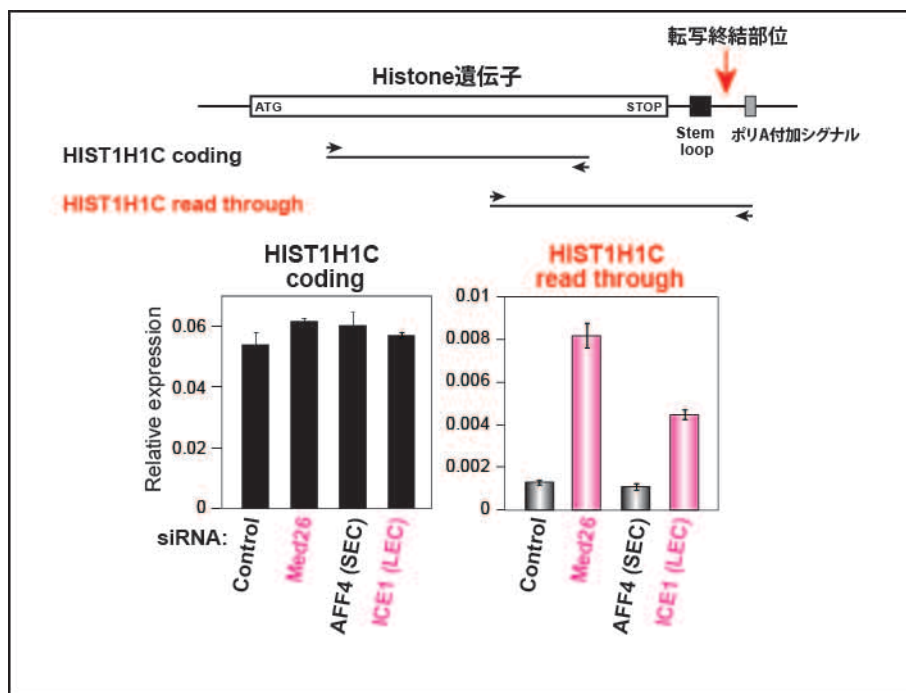


図1. Med26とLECは転写終結を制御する

Med26とLECのノックダウンによって、転写が正常に終結されないヒストン遺伝子のmRNA（PolyAの付加された）が増加した。

これらの結果より、Med26とLECは、複製依存性のヒストン遺伝子やsnRNA遺伝子などの比較的短い遺伝子の転写を正常に終結させることによって、mRNAのポリA付加を防いでいる可能性が考えられる。さらに、この結果は、Med26とSECがポリAを有する遺伝子（タンパク質をコードする比較的長い遺伝子）の転写を制御するのに対して、Med26とLECはポリAの無い遺伝子（snRNAやHistoneなどの短い遺伝子）の転写を制御する可能性を示唆している（図2）。

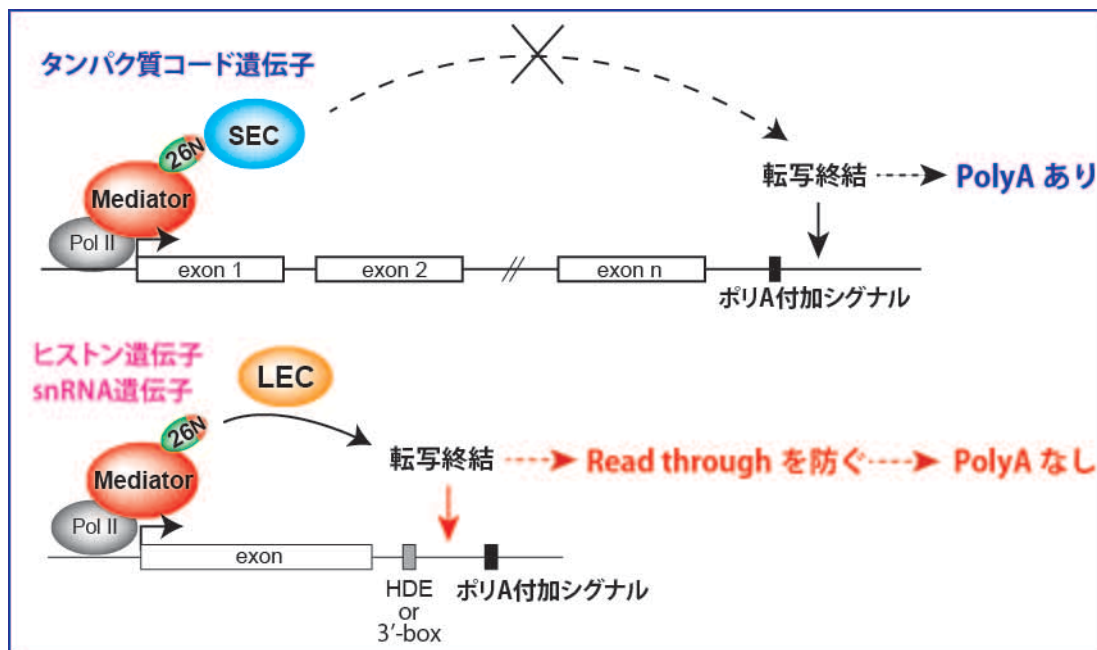


図2. Med26 と LEC による転写終結制御機構

Med26 は LEC と共役し、転写を正常に終結させることによって、Pol II の Read through (読み過ごし) を抑制し、ポリ A 付加を防ぐ。

また、LEC は複製依存性ヒストン遺伝子の転写の終結を制御することから、LEC が複製依存性ヒストン遺伝子の mRNA と結合する可能性が考えられた。実際に、LEC のサブユニット ICE1 と ICE2 の RIP (RNA immunoprecipitation) シークエンス解析を行ったところ、ICE1 と ICE2 に結合する RNA として、複製依存的ヒストン mRNA が同定された。

さらに、Med26 は LEC と共に核内ボディ Cajal bodies (CBs) に局在し snRNA 遺伝子の転写を制御する。一方、ヒストン遺伝子は核内ボディ Histone locus bodies (HLBs) で転写される。興味深いことに、CBs と HLBs は近接して存在していることから、Med26 と LEC は、CBs と HLBs の共局在する領域において、snRNA 遺伝子とヒストン遺伝子のポリ A 付加を同時に抑制している可能性も考えられた (図3)。

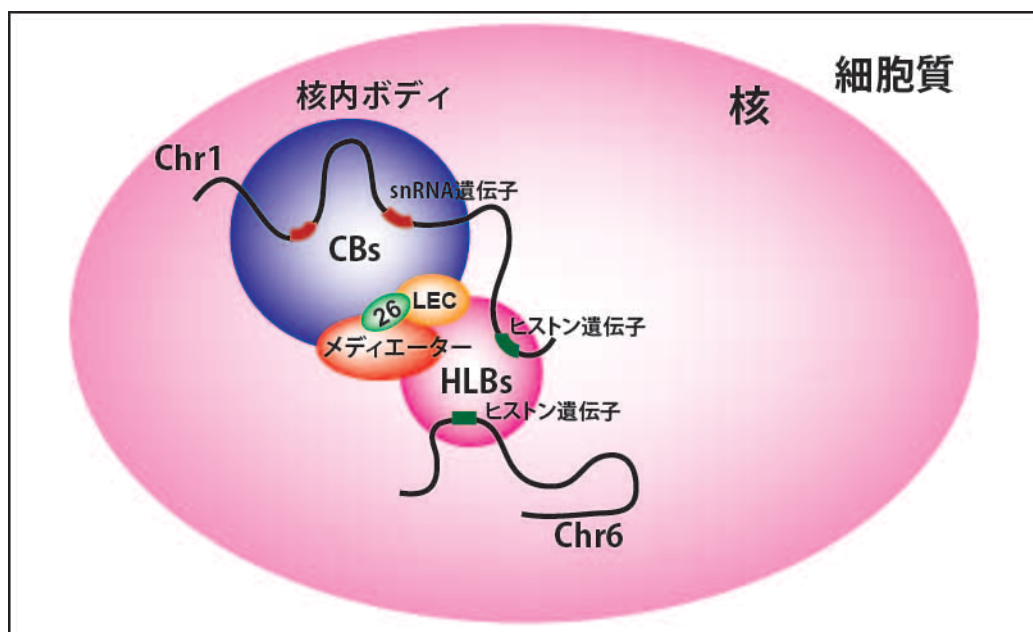


図3. 核内ボディにおける転写終結制御

Med26 と LEC は、CBs と HLBs において、Chr1 と Chr6 に存在する snRNA 遺伝子とヒストン遺伝子の転写終結を制御する可能性がある。

本研究によって、メディエーターのサブユニット Med26 は、転写伸長だけではなく、転写の終結も制御することがわかってきた。本研究の推進によって、メディエーターが転写制御に加えて、RNA のプロセッシングや核外輸送などの成熟過程にも関与することが明らかとなることが期待できる。

文 献

- 1) Takahashi H, Parmely TJ, Sato S, Tomomori-Sato C, Banks CA, Kong SE, Szutorisz H, Swanson SK, Martin-Brown S, Washburn MP, Florens L, Seidel CW, Lin C, Smith ER, Shilatifard A, Conaway RC, Conaway JW.: Human Mediator Subunit MED26 Functions as a Docking Site for Transcription Elongation Factors. *Cell*, 146(1), 92-104, 2011, doi: 10.1016/j.cell.2011.06.005. PubMed PMID: 21729782
- 2) Lin C, Smith ER, Takahashi H, Lai KC, Martin-Brown S, Florens L, Washburn MP, Conaway JW, Conaway RC, Shilatifard A.: AFF4, a component of the ELL/P-TEFb elongation complex and a shared subunit of MLL chimeras, can link transcription elongation to leukemia. *Mol Cell*, 37(3), 429-437, 2010. doi: 10.1016/j.molcel.2010.01.026. PubMed PMID: 20159561
- 3) Takahashi H, Takigawa I, Watanabe M, Anwar D, Shibata M, Tomomori-Sato C, Sato S, Ranjan A, Seidel CW, Tsukiyama T, Mizushima W, Hayashi M, Ohkawa Y, Conaway JW, Conaway RC, Hatakeyama S.: MED26 regulates the transcription of snRNA genes through the recruitment of little elongation complex. *Nat Commun*, 6, 5941, 2015. doi: 10.1038/ncomms6941. PubMed PMID: 25575120
- 4) Anwar D., Takahashi H., Watanabe M., Suzuki M., Fukuda S., Hatakeyama S.: p53 represses the transcription of snRNA genes by preventing the formation of little elongation complex. *BBA Gene Regulatory Mechanisms*, 1859, 975-982, 2016. doi: 10.1016/j.bbagr.2016.06.001. PubMed PMID: 27268141