

新生RNAワールド：超高解像度で見る RNAポリメラーゼII 転写制御

講師：野島 孝之 先生

(Sir William Dunn School of Pathology, University of Oxford)

日時：2017年12月14日(木) 16:30-18:00

場所：薬学研究棟 セミナー室8

RNAポリメラーゼII (RNA polymerase II, Pol II) 転写はダイナミックな反応である。Pol II 最大サブユニットのC末端ドメイン (CTD) は特徴的な7アミノ酸繰り返し配列 (YSPTSPS) を有し、転写中に高度にリン酸化される。試験管内反応を主とした生化学的な解析から、CTDリン酸化は転写伸長因子やRNAプロセッシング因子を Pol II に呼び込むために重要であると考えられている。しかしながら、現在の技術では合成されたばかり転写産物 (新生RNA) の解析が困難であり、解析解像度が低い。そのため、細胞内でのCTDリン酸化を介したPol II転写伸長反応やRNAプロセッシング反応の正確なキネティクスはよくわかっていない。

Pol II 転写の高精度・網羅的解析を可能とするため、我々は哺乳類細胞を用いて 新生RNA合成を捉えることが出来る mammalian native elongating transcript sequencing (mNET-seq) 法を開発した。mNET-seq法は、一塩基解像度でPol II 転写活性部位をゲノム上に正確にマッピングすることができる。さらに、スプライシング中間体やマイクロRNA前駆体などの分解されやすいRNAプロセッシング中間産物を検出することが可能である。興味深いことに、CTD 5番目セリンのリン酸化 (S5P) がエクソン上でのPol II一時停止、活性化スプライシング複合体の呼び込みなど、転写と共役したスプライシング制御に関わっていることが明らかになった。また、転写終結因子が、ポリAシグナル下流でPol IIスピードを遅らせ、転写終結を促進していることが示唆された。さらに、タンパク質をコードするmRNA前駆体遺伝子とコードしないノンコーディングRNA遺伝子の異なる発現制御機構も明らかになった。

以上のように、mNET-seq法はPol II CTDリン酸化状態特異的な新生RNAプロファイルの超高解像度解析を可能にし、複雑な哺乳類Pol II 転写反応を理解する強力なツールになると期待される。現在、mNET-seq法を応用した質量分析 (mNET-MS) 法を用いて、CTDリン酸化特異的Pol II伸長複合体タンパク質群を解析している。今回は、mNET-seq法とmNET-MS法で得られた情報をもとに、転写と共役したスプライシング機構の最新知見を紹介したい。更には、Pol II転写方向を制御する新しいメカニズムも議論したい。