題名	動物細胞における転写制御:因子とメカニズムの織りなす宇宙を旅した50年
Title	Regulation of Transcription in Animal Cells: A 50-year Journey Revealing an Expanding Universe of Factors and Mechanisms
著者名	ロバート・G・レーダー
Author(s)	Robert G. Roeder
言語	日本語
行事名	第 36 回(2021)京都賞記念講演
出版者	公益財団法人 稲盛財団
発行日	2022年10月1日
開始ページ	1ページ
終了ページ	12 ページ
URL	https://www.kyotoprize.org/wp-content/uploads/2022/10/2021_roeder_jp.pdf

英語版テキストURL: $\underline{\text{https://www.kyotoprize.org/wp-content/uploads/2022/10/2021_roeder_en.pdf}}$

第 36 回(2021)京都賞記念講演 ロバート・G・レーダー

動物細胞における転写制御:因子とメカニズムの織りなす宇宙を旅した50年

第36回(2021)京都賞基礎科学部門の受賞につきましては、大変光栄に思うとともに、身の引き締まる思いです。稲盛財団の理念や哲学を踏まえるとひときわ喜ばしいことであり、財団の関係者の皆様に心より御礼申し上げます。50年以上にわたる生物学の研究を通じて得られたいくつかの重要な発見と、私の個人的な歩みについてお話しさせていただきます。

よく「人間とは遺伝子である」と言いますが、正確には「人間は遺伝子の産物である」と言えます (Fig. 1)。セントラルドグマによると、DNAはRNAの複製に転写され、それがさらにさまざまな酵素 構造や制御特性を持つタンパク質へと翻訳されます。驚くべきことに、胚性幹細胞は、同じ遺伝子群 から異なる種類の細胞を作り出すことができるのです(Fig. 2)。それと関連して、さまざまな種類の 細胞の正常な形成と機能、またそれらに関わる病理は、異なる遺伝子発現から生じ、これらは主に遺 伝子発現の最初のステップである転写レベルで制御されます。そのため、転写を制御する機序を理解 することは極めて重要であり、これが50年にわたる私の主な目標でもあり、情熱でもあったのです。 転写は、RNAポリメラーゼと呼ばれる酵素によって行われるのですが、真核生物における転写について説明するための枠組みとして、原核生物における転写をFig. 3に示しています。要するに、DNAは単一のRNAポリメラーゼから転写され、遺伝子に特異的な活性化因子の相互作用によって制御されているのです。真核生物の場合と同じように、転写は特定の部位で始まり、DNAの鋳型鎖である一本鎖 RNAの複製を作ります。

先に簡単にまとめますと、私の主な発見としては、真核生物のRNAポリメラーゼI、II、III、それらの個有の構造・機能・基本転写開始因子、遺伝子特異的な転写活性化因子の最初の例、基本転写補因子および遺伝子特異的活性化補因子、転写における染色体のヒストン修飾の因果的な役割、そして特定の遺伝子を正確に転写できる生化学的に定義された無細胞系が挙げられます。これらについて詳しくお話しする前に、私の人生について少し触れたいと思います。

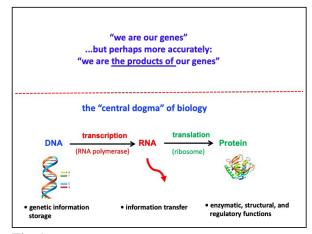


Fig. 1 F

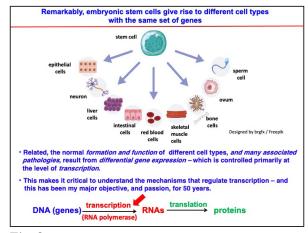


Fig. 2

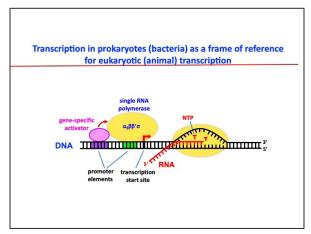


Fig. 3



Learning to drive a tractor in anticipation of future farmwork

Fig. 4

私の生い立ち

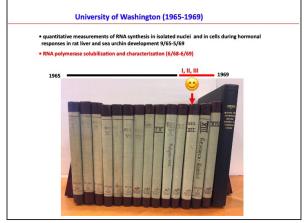
私はインディアナ州南部の農場で生まれ育ちました。両親は正式な教育をほとんど受けていません でしたが、思いやりがあり、四人の子供たちが正直で謙虚で勤勉な人間となるよう教育してくれまし た。両親は、学校では真面目に勉強するものという考えでしたが、高校卒業後の進学については想定 しておらず、私が家族の経営する農場に残ることを期待していました。Fig. 4は、日曜の午後に家族で 出かけた時に撮った1946年の写真です。左下が私と二人の兄で、農家の子供がよく着ていたオーバー オールを着ています。Fig. 5は、私で、未来の農作業を見据え、トラクターを運転してみているところ です。子供の頃は、いわゆる科学にはほとんど触れることはなかったのですが、小さな機器の動く仕 組みを解き明かすのが楽しく、鉱石ラジオなど、さまざまな小さな装置を組み立てることもしていま した。高校時代には、特に数学と化学に興味を持ちましたが、農作業で忙しかったため、課外活動に 勤しむ時間はほとんどありませんでした。幸運なことに、成績がよかったため、ワバッシュ大学とい う科学の分野に強い、小さな大学の学費が全額免除になる奨学金を受けることができました。私の主 な関心は化学でしたが、新任の助教授であったカリフォルニア工科大学のトム・コールが担当してい た講座で学ぶうちに、生化学や当時台頭し始めた分子生物学にも興味を持つようになりました。特に、 1961年にジャコブとモノーが発表したバクテリア内における遺伝子制御に関する著名な論文に影響を 受け、哺乳類細胞における遺伝子制御を将来の研究テーマとして考えるようになりました。こうした 興味から、私はイリノイ大学大学院の生化学分野に進みました。イリノイ大学では、ビル・ラターの 研究室に入りました。彼は素晴らしいメンターであり、転写ではないものの、膵臓の発達におけるア ルドラーゼと呼ばれる酵素について研究していました。幸運なことに、彼は私が転写の研究をするこ とを許可してくれ、研究室がシアトルにあるワシントン大学に移った1965年にいよいよ研究を始めま

Fig. 5

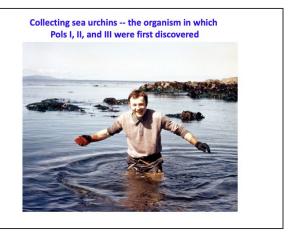
した。当時は、哺乳類細胞の遺伝子制御について、バクテリアと同様にRNAにはメッセンジャーRNA、リボソームRNA、トランスファーRNAという3種類の主なクラスがあるということ以外はほぼ知られていませんでした。私の当初の研究は、ラットの肝臓におけるホルモン応答やウニの発生過程で単離した細胞核、細胞内で起こるRNA合成の定量的な測定に注目していました。しかし、当時はまだ遺伝子クローニングの技術がなく、特定の遺伝子産物のモニタリングはできませんでした。そのため、転写という問題の核に迫ることを決め、まずDNAを転写する酵素の同定に取り組みました。後で詳しくお話ししますが、これが私のRNAポリメラーゼ(Pol)I、II、IIIの発見につながりました。私のキャリアにおける、まさしく「エウレカ!」の瞬間であり注目に値する論文となることは確実でした。ポスドクでは、私に影響を与えたもう一人のメンターであり、リボソームRNA大サブユニットの遺伝子を精製した人物でもあるドン・ブラウンの研究室に入りました。私は、核小体における共局在により、その遺伝子はPol Iによって転写されているのではないかと考えていたのです。驚いたことに、私は精製したPol Iによってこれらの遺伝子が特異的に転写されるのを確かめることができず、真核生物における転写が思っていたものよりも複雑なのではないかと考えるようになりました。この事がその後、セントルイスのワシントン大学に構えた自身の研究室で行う研究のきっかけになったのです。

真核生物核RNAポリメラーゼの同定

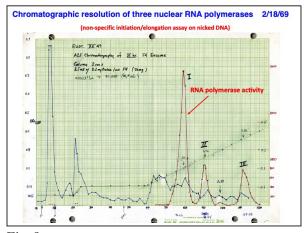
大学院での研究に話を戻します。真核生物における核RNAポリメラーゼの同定に関して、1959年か ら60年にかけて、サム・ワイスが単離した細胞核とクロマチン凝集体の両方におけるNTP依存型の RNA合成を示しました。1964年から69年の間には、複数の研究室が、クロマトグラフィーによる分離 後のRNAポリメラーゼ活性のピークは一つしかないことを報告し、酵素は単一であることが示唆され ていましたが、これらは低塩分かつ収量の低い抽出方法を採用してのものでした。1968年から69年に かけて、私はラターの研究室で、バクテリアの場合とは異なり、真核細胞においては、転写に関与し ているRNAポリメラーゼのほとんどはクロマチンに結合していることに気づき、ヒストンDNAとポリ メラーゼDNA-RNA複合体を解離させるための高塩濃度や超音波処理、定量的に可溶化したRNAポ リメラーゼを残し、DNA-ヒストンを沈殿させるための低塩濃度の透析、最終的にはPol I、II、IIIを 分離するためのイオン交換クロマトグラフィーなど、新しい抽出および精製手順を体系的に開発しま した。Fig. 6は、私の実験ノートと博士論文で、12冊目にはPol I、II、IIIを発見した時に書き留めた記 録が残っています。Fig. 7は、私がウニを採取しているところです。ウニは私がPol I、II、IIIを初めて 確認した生物です。Fig. 8は、1969年2月に3種類の核内RNAポリメラーゼをクロマトグラフィーによっ て分離した際の記録で、赤線は三つの異なるRNAポリメラーゼ活性を示しています。この研究結果 は、私にとって初めての論文となり、『ネイチャー』のアーティクルとして発表されました(Fig. 9)。 ただし、この論文はもともと1969年8月5日に『ネイチャー』に投稿したのですが、一般的な関心の対 象となるものではないという理由で、最初は掲載拒否されてしまいました。大学院生にとっては受け 止め難い瞬間でした。しかし、喜ばしいことに、同年10月18日には、当初投稿したままの内容で掲載







されたのです。1969年にRNAポリメラーゼI、II、IIIを同定したことは、その後の研究の基礎となりましたが、後ほどお話しするとおり、実はこれは氷山の一角に過ぎませんでした(Fig. 10)。2003年にラスカー賞を受賞した際の『真核生物の転写装置――その複雑性とこれまでに見られなかったメカニズム』でも述べている通りです。



This work resulted in my first publication—a Nature Article!

234

Multiple Forms of DNA-dependent RNA Polymerase in Eukaryotic Organisms

by ROBERT G. ROEDER*
WILLIAM J. RUTTER†
Department of Blockmarky.
Seattle Wilds

Of note, the paper was:

- submitted to Nature August 5, 1969 and initially rejected ("not of general interest")

- but, happily, published October 18, 1969 as originally submitted

Fig. 8

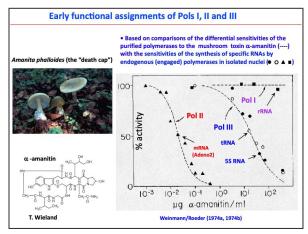
Fig. 9



Fig. 10

RNAポリメラーゼの具体的な機能の同定

次のタスクはこれらの酵素の具体的な機能を明らかにすることでした。初期に行ったそれぞれの酵素の機能の同定は、マッシュルームの毒素 α -アマニチンに対する、単離した細胞核の内因性ポリメラーゼによる特異的なRNA合成の感度と、精製したポリメラーゼによる合成感度の比較に基づいていました(Fig. 11)。右側の図でご覧いただける通り、mRNAの合成の感度はPol IIのそれと一致しており、5 SとtRNAの合成の感度はPol IIIのそれと一致し、リボソームRNAの合成の感度はPol Iのそれと一致していました。これらの研究からは、RNAポリメラーゼI、II、IIIがそれぞれリボソームRNA、mRNA、および5 SとtRNAをコードしている遺伝子を転写していることが明らかになりました(Fig. 12)。そして、これらのRNAはタンパク質の合成のためにリボソーム上で収斂します。このシナリオは、すべてのRNAクラスに対して酵素が一つしかない原核生物と比べると独特のものであり、例えば成長状態における変化などにおいて、主要なRNAクラスの全体的な合成をそれぞれに制御するための便利な手段を提供しているのです。



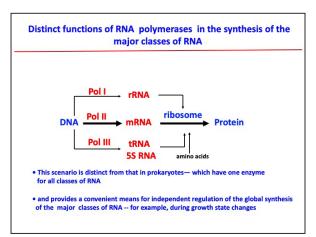


Fig. 11

Fig. 12

独特なRNAポリメラーゼの機能の構造的な基盤の評価

これらの重要な研究結果を踏まえての、次の課題は独特なRNAポリメラーゼの機能の構造的な基盤を評価することでした。Fig. 13 左側のパネルに示している通り、1974年までには、学生たちと私はマウスの腫瘍細胞からRNAポリメラーゼそれぞれを精製し、電気泳動によってそれらを分解しました。ご覧の通り、三つの酵素は複雑かつ独特なサブユニット構造を持っています。20年後、センテナックとヤングの研究室が酵母の酵素を精製し、対応するサブユニットのクローンに成功しました(Fig. 13右側のパネル)。これらの研究からは、一部のサブユニットが三つのRNAポリメラーゼの間で共通しており、他の一部のサブユニットは完全に独特で、さらに他のサブユニットはお互いやバクテリアのRNAポリメラーゼに強く関係していることが解明されました。つまり、これらの結果は一部の共通の酵素特性や、三つの酵素の独特な特異性や制御の分子的な基盤を明らかにしたのです。

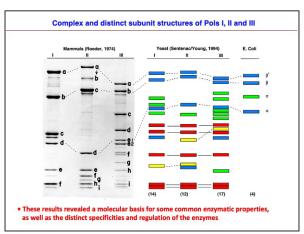
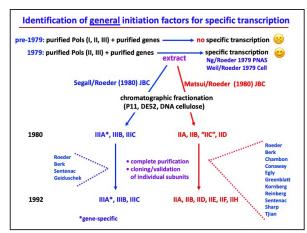


Fig. 13

精製したRNAポリメラーゼによる特異的な遺伝子の正確な転写メカニズムをメカニズム解析によって 確実に理解すること

酵素の独特な構造や機能を踏まえての次のタスクは、精製したRNAポリメラーゼによる特異的な遺伝子の正確な転写メカニズムを、メカニズム解析によって確実に理解することであり、研究の結果、特異的転写のための基本転写開始因子が同定されました(Fig. 14)。1979年以前は、精製したRNAポリメラーゼI、II、IIIを対応する遺伝子と反応させても、特異的な転写は実現していませんでした。しかし1979年、細胞抽出物が存在している状態で精製した遺伝子による精製したRNAポリメラーゼIIまたはIIIとの反応により、特異的な転写を示すのに私たちが成功しました。1980年には、クロマトグラ

フィーによるこの抽出物の分画で、RNAポリメラーゼIIIのためのTFIIIBとTFIIICという2種類の基本 転写開始因子と、TFIIIAと呼ばれる遺伝子特異的な因子を発見しました。そしてRNAポリメラーゼ II に関しては、後にTFIIA、TFIIB、TFIID、TFIIE、TFIIF、TFIIHと呼ばれることになる複数の因子 の同定(部分的な精製)にもつながったのです。その後1992年にかけて、私の研究室や他の研究室(Fig. 14 参照)で行われていた研究をもとに、これらの因子の完全な精製と、個々のサブユニットのクロー ン化やその検証が行われました。Fig. 15では、精製したPol IIによって開始された正確な転写に関する 元データの一部を示しています。ここに示すように、アデノウイルス主要後期プロモーターを含む DNA断片をPol IIとその抽出物とともに反応すると、内在性の開始点における特異的な開始を示す536 個のヌクレオチドからなるRNA転写物の合成に至ります。このRNAは、RNAポリメラーゼIIがα-アマニチンによって阻害されたり、抽出物が反応に含まれない条件では見られないものでした。ここ に示すように、精製した因子(Fig. 14 下側のパネル)を用いたその後の研究では、すべての因子が存在 している場合は転写を確実に行うのが確認されましたが、因子のどれか一つまたはRNAポリメラーゼ Ⅲを排除した場合は、転写は確認されず、プロモーター特異的な転写開始のための必要条件を明確に することができました。これらの研究の意義は、遍在するPol IIと基本転写開始因子によって起こる細 胞特異的なアデノウイルス2型や B グロビンプロモーターからの転写が、正確でありながらも片端から 行われることを明らかにしたことです。このことは、DNAがクロマチンに組み入れられるという基本 的な抑制メカニズムの予測と発見、抑制を解除する遺伝子特異的および細胞特異的な転写制御因子の、 すなわち活性化因子の、予測とその後の発見につながりました。



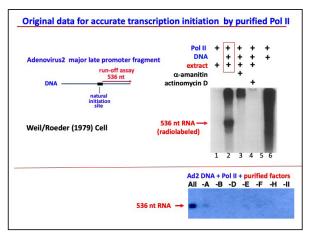


Fig. 14

Fig. 15

特異的な転写開始に関わるメカニズムの解明

基本転写開始因子を同定した後の次のタスクは、ポリメラーゼやこれらの因子による特異的な転写開始に関わるメカニズムを確立させることでした。Fig. 16 (左側のパネル)は、Pol IIIによって転写されるtRNA遺伝子に関する、私たちの初めの研究成果を示しています。プロモーターはTFIIIによって認識され、TFIIIにはさらにTFIIIBやPol IIIを段階的に動員し、それが約25種類のポリペプチドを含む転写開始前複合体の形成をもたらします。同様の結果は、Pol IIによって転写されるプロモーター解析からも得られました(Fig. 16 右側のパネル)。私たちが行った初期の研究は、開始因子TFIIDがプロモーターを最初に認識することを示しています。その後、私の研究室や他の研究室によって、44種類のポリペプチドを含む転写開始前複合体の形成において残りの因子が段階的に組み入れられ、これらの転写開始前複合体のいずれかをヌクレオシド三リン酸とともに反応させることで、特異的な転写やそれに続いての転写伸長反応が起こることが確認されました。

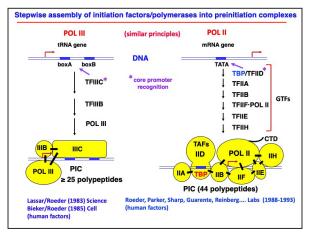


Fig. 16

遺伝子と細胞に特異的な転写活性化因子の発見

この研究の旅における次の重要な出来事は、遺伝子と細胞に特異的な転写活性化因子の発見でした。 これらはバクテリアの研究における先例や、基本転写装置そのものは対象を選ばずに転写を行うこと からも予測されており、遺伝子と細胞に特異的な転写を達成するための何らかのメカニズムが必要で した。同定された一つ目の因子は5 S遺伝子に特異的なTFIIIAでした。機能的転写アッセイに基づき、 1980年に精製されたTFIIIAは5SRNA遺伝子に結合し(Fig. 17)、それを活性化させ、真核生物におけ るDNA結合転写活性化因子の最初の例であることが明らかになりました。Fig. 17左側のパネルでは、 精製したPol III、TFIIIB、TFIIICを伴う転写アッセイを示しており、対照するために使ったtRNA遺 伝子は転写されるものの、5S RNA遺伝子の転写には至らないという結果が得られました。5S遺伝子 の転写は、TFIIIAが存在している場合に達成され、これらの同じ因子をパネルにも示しています。中 央のパネルは単に電気泳動によって分解し、高度に精製したTFIIIAを示しており、右側のパネルは DNaseフットプリントアッセイによるTFIIIAのプロモーター結合を示しています。1980年に行われた これらの研究の後に私たちによるTFIIIAのcDNAクローニングの研究が続き、転写開始因子のタンパ ク質の塩基配列を初めて明らかにしたことは、アーラン・クルグが真核生物の転写因子として最も一 般的であるDNA結合モチーフであるZnフィンガーモチーフを推測するきっかけにもなりました。ま た、私たちは、プロモーターに結合するTFIIIAがその後のTFIIICの動員を促進し、特定のプロモー ターには結合しないTFIIICが、tRNA遺伝子で見られるように、TFIIIBやPol IIIを段階的に動員する ことを、メカニズムとして示しました(Fig. 18)。これは、真核生物における遺伝子特異的な転写活性 化因子の作用機序としては初めて定義されたものであり、活性化因子がRNAポリメラーゼを直接結合 させる原核生物のメカニズムとは異なり、独特なものです(Fig. 3)。

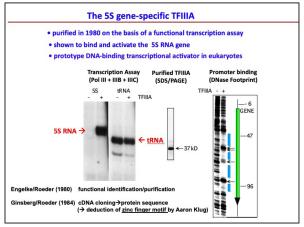
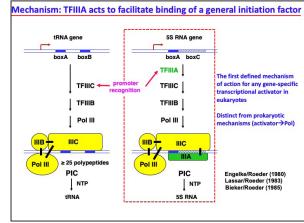
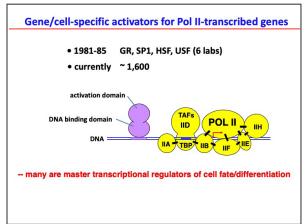


Fig. 17 Fig. 18



次の4年間にわたる私自身や他の研究室が行った研究により、Pol II転写遺伝子の遺伝子特異的な活性化因子の同定につながり(Fig. 19)、現在、私たちはこれらの遺伝子特異的または細胞特異的な因子を約1,600個把握できています。これらはDNA結合ドメインと、活性化ドメインと呼ばれるドメインによって代表されています。Fig. 20でまとめている通り、これらの多くは細胞の運命や分化のマスター転写制御因子です。1987年には、ワイントラウブによってMyoDが線維芽細胞を筋細胞へと変換できることが明らかになりました。2006年にはヤマナカ(山中伸弥)が、たった四つの他の因子を外部から導入して発現させることによって線維芽細胞を多能性幹細胞へと変換できることを示しました。これらの素晴らしい研究は、京都賞やノーベル賞をはじめとするさまざま賞によって讃えられています。マスター転写制御因子を扱ったこのような研究やその他の研究の一部をFig. 20に示しています。これらの研究は、細胞の運命を変える能力を持つ転写制御因子の生理学的な重要性と威力の両方を表すものです。



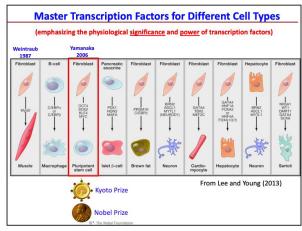


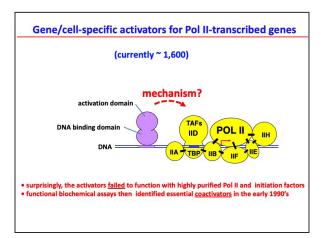
Fig. 19

Fig. 20

遺伝子/細胞特異的活性化因子の作用機序の確立

生物学的に非常に重要なこれらの研究を踏まえての次のタスクは、Pol IIによって転写される遺伝子 の、遺伝子/細胞特異的活性化因子の作用機序を確立させることであり、この因子がいったんプロ モーターまたはエンハンサー部位に結合した後、ターゲット遺伝子上の転写開始前複合体の形成と機 能にどのように影響するのか?という基本的な問いに答えようとするものでした(Fig. 21)。大変驚い たことに、これらは複雑な構造であることから、活性化因子は高純度に精製したPol IIや開始因子とだ けでは機能しなかったのです。その後、必要不可欠な活性化補因子が、生化学アッセイにより、1990 年代初頭に複数の研究室によって同定されましたが、その一部をFig. 22にまとめています。ここでは、 基本転写装置に直接働く補因子群を紹介しています。これらには、最初に発見したティジャンの研究 室が扱ったショウジョウバエや、私とバークの研究室においてヒト細胞で確認された、TFIIDのTAF サブユニットも含まれます。活性化補因子複合体の中でも最も重要であると思われる30個のサブユ ニットからなるメディエーター複合体は、当初ヤングとコーンバーグの研究室による遺伝学や生化学 アッセイに基づき酵母で確認され、RNAポリメラーゼIIと直接的に相互作用することが示されました。 私の研究室は、生化学アッセイに基づいて、それを初めてヒト細胞で確認し、さらに、転写活性化因 子への直接的な結合をも示しました。TAFとメディエーターという両群の補因子とも、一般的に活性 化因子の機能に必要です。また、B細胞におけるOCT1およびOCT2が結合した遺伝子に対して選択的 で、B細胞特異的な活性化補因子、OCA-Bも同定しました。これを皮切りとして、細胞・遺伝子特異 的活性化補因子の世界は拡大しつつあります。Fig. 23では、メディエーターの機能について詳細を示 しています。メディエーターは基本的に、エンハンサーに結合した多様な活性化因子と基本転写装置 の橋渡しとして作用しています。私たちが最初に示した通り、リガンドと結合したTRやPPARッ (PPARガンマ)などの核内ホルモン受容体は、MED1サブユニットを通してメディエーターと相互作 用しており、ここで詳しく説明しています。この直接的な相互作用は、プロモーター上の基本転写装

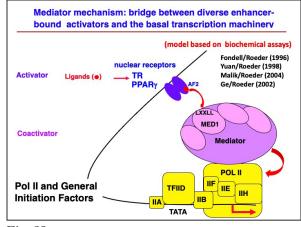
置とのその後の相互作用のために、活性化因子に結合したエンハンサーにメディエーターを動員します。このモデル図は生化学アッセイに基づいていますが、Fig. 24でお見せする通り、マウス胚線維芽細胞を用いたPPAR γ 依存型脂肪生成モデルにおけるMED1ノックアウトアッセイによっても検証されました。スピーゲルマンの研究室が最初に示したように、線維芽細胞はマスターレギュレーターPPAR γ における誘導因子によって脂肪細胞へと分化することができます。左側のパネルで、オイルレッドOによって染色した脂肪滴を伴う分化した脂肪細胞を示しています。右側のパネルに示されているように、MED1欠損MEFは同じ条件下では脂肪細胞へと分化できず、さらにPPAR γ ターゲット遺伝子の発現も欠損していました。この解析はメディエーター、具体的にはMED1サブユニットの機能と生理学的な関連性の検証を可能にしたのです。



Pol II activator function involves different types of coactivators TATA **DNA template** TFIID ofactors that operate directly on th TEIIA general transcription machiner TFIIR Mediator TEIIF-Pol II TEILE OCA-B. TEIIH POL II IID шв 🗡 IIF TFIID/TAFs: Tjian (Drosophila); Roeder, Berk, (human) Mediator: Young, Kornberg (yeast); Roeder (human) OCA-B: Roeder (human) – selective for OCT1/2-bound

Fig. 21

Fig. 22



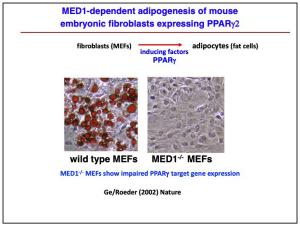


Fig. 23

Fig. 24

クロマチンにおける転写制御

次に、細胞内における本来の状態を考慮し、クロマチンにおける転写制御について解析しました。皆さんもご存じの通り、ゲノムDNAはコアヒストンと相互作用し、DNAのパッケージ化と転写の抑制においても働くヌクレオソーム構造を形成します(Fig. 25)。多くの研究室が、多様な酵素群によって、非常に特異的な部位において、ヌクレオソーム上のこれらのヒストン尾部のアセチル化・メチル化・リン酸化・ユビキチン化が可能であることを明らかにしました。このことが、クロマチン鋳型の修飾時に作用する補因子群の研究につながりました(Fig. 26)。その中には、前述した、修飾を施すATP依存型のクロマチン再構築因子やヒストン修飾因子なども含まれます。これらの因子は他の研究室によって発見されましたが、私たちは、生化学研究と機能研究の両方のために、これらの補因子の統合的機能を調べることが可能な定義された無細胞系の確立に関心を持っていました。全体的な実験

概要はFig. 27に示しています。先ほど説明しました通り、鋳型DNAをPol IIや開始因子とともに反応 させると、非特異的でありながらも活発な転写となります。私の研究室は、コーンバーグとルースの 研究室と同様に、DNAがヒストンを伴ってクロマチン構造に組み入れられると、このような無差別的 な転写は抑制されることを示しました。つまり、予測されていた基本的な抑制メカニズムが実証され たのです。その次に、これらの鋳型や私たちのアッセイをPol II、転写開始因子やさまざまな活性因 子、ならびにさまざまな補因子と併せて活用し、内在性の抑制された鋳型クロマチンの再活性化を再 構築しました。このプロトコルに関する詳細はFig. 28に示していますが、ジム・カドナガの手順に従 い、活性化因子結合部位とコアプロモーターを伴う鋳型DNAと、バクテリアで発現し精製されたヒス トンでクロマチンを形成します。そして、ここに示しているように、数珠のような構造を持つクロマ チンを、活性化因子やアセチルトランスフェラーゼやメチルトランスフェラーゼとともに反応させ、 クロマチンを修飾します。これらの修飾した鋳型は、その他のすべての基本転写因子の供給源として の細胞核抽出物、または精製したPol II、開始因子、活性化補因子、伸長因子とともに反応させ、100以 上の種類を超えるポリペプチドを含む鋳型クロマチンからなるよく定義された無細胞転写システムと なります。特筆すべきこととして、このシステムのクロマチン形成には野生型のヒストン、修飾でき ない変異ヒストン、または修飾される前のヒストンも使えますので、この系によりヒストン修飾の因 果効果を確立させ、さまざまな活性化補因子による直接的な影響やその作用機序について明らかにす ることができました。これらの結果の一部は Fig. 29にまとめています。最初は、ヒストンの修飾にも 影響する2種類のアルギニンメチルトランスフェラーゼや、ヒストンH3/H4アセチルトランスフェ ラーゼ、p300の機能の解析に取り組みました。その後、プロモーター領域においてヒストンの第4リジ ン残基を修飾するメチルトランスフェラーゼであるSET1複合体と併せてp300の機能を解析しました。 まとめると、これらの研究(Fig. 29)は、特異的なヒストン修飾とともに活性化因子依存型の転写にお

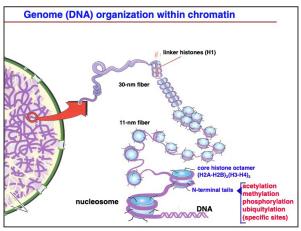


Fig. 25

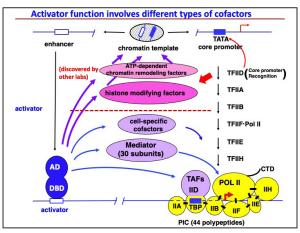


Fig. 26

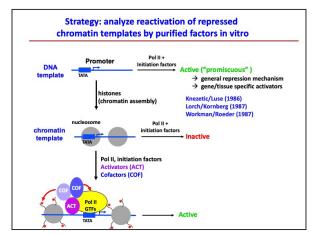


Fig. 27

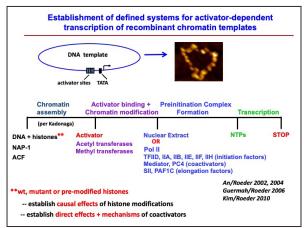


Fig. 28

ける活性化補因子の秩序ある協調的な相互作用と機能を明らかにしました。そして最も重要な点は、 ヒストン修飾が転写に与える因果効果を確立できたことでしょう。これは、ヒストンのアセチル化お よびメチル化部位に変異を導入すると補因子の機能が失われたという結果から示されたものです。 1997年やその後に、ヒストン修飾因子が数多くの転写因子も機能的に修飾できると示されたことから も、このような観察が極めて重要であったことがお分かりいただけると思います。そしてより一般的 な細胞アッセイや遺伝学アッセイからは、ヒストン修飾と転写の相関関係のみが示され、必要不可欠 な基質は同定されていません。繰り返しになりますが、このような研究は、ヒストン修飾について予 想される因果効果を解明する上で重要だったのです。

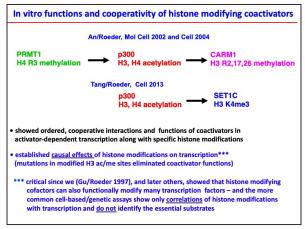


Fig. 29

主な発見と成果

Fig. 30に示すように、講演全体を総括しますと、私の研究成果には、構造的および機能的に独特で一般的なRNAポリメラーゼ、同族の基本転写開始因子、遺伝子および細胞に特異的な転写活性化因子、基本的および遺伝子または細胞に特異的な補因子、精製した因子や組換えDNAと鋳型クロマチンを伴う生化学的に定義された無細胞系の使用を通じた転写制御に関わる機序、クロマチンに基づいた抑制機序、そして転写におけるヒストン修飾の因果的な役割などがあります。Fig. 30で図解していますように、たった一つの単純な遺伝子の転写に必要な因子や複合体全体は複雑で、少なくとも100以上の個別のポリペプチドがさまざまな因子の間に分散している必要があるのです。

これらの発見は、その後の研究の基盤となりました。その後の研究には、例えば、X線結晶解析クライオ電子顕微鏡を用いた素晴らしく解像度の高い転写装置の構造、遺伝子活性化機序に関するゲノム解析、細胞イメージングを活用した遺伝子活性化メカニズム、遠位エンハンサーの根底にあるメカニ

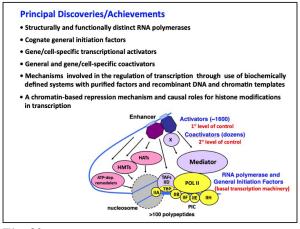


Fig. 30

ズム、プロモーターの相互作用や機能、遺伝子活性化において台頭しつつある相分離の生体分子凝縮 体、転写制御の回路などの研究が挙げられます。異常を示す転写因子の分子基盤の理解や治療に向け た機能操作、さらには、人の多くの病理に見られる転写制御回路などの研究に結びついたことも重要 な点です。

謝辞

締めくくりに、これまでの成果に貢献してくれた120名を超える大学院生や博士研究員、私の学部時 代や博士研究員時代のメンター、転写の分野における多くの同僚の皆様、そして私の科学への献身を 絶えず支え続けてくれた家族に感謝します。Fig. 31は、私のキャリアの初期に大きな影響を与えてく れたメンターたちで、ワバッシュ大学の教授であったトム・コール、博士課程の指導教官ビル・ラ ター、そして博士研究員時代のメンター、ドナルド・ブラウンです。Fig. 32に映っているのは、私の 70歳の誕生日を記念して、2012年にロックフェラー大学で開かれたシンポジウムに集まってくれた、 私の優秀な学生や博士研究員たちです。最後に、このような本当に素晴らしい賞を受賞するにあたり、 稲盛財団に改めて御礼申し上げます。ご清聴ありがとうございました。



Fig. 31