

2023 年度年次報告書
環境とバイオテクノロジー
2022 年度採択研究代表者

澁田 未央

山形大学 学術研究院
助教

転写因子によらない迅速な転写制御機構の解明

研究成果の概要

第 2 年次では、ライブイメージングに培養細胞を取り入れ、転写活性型 RNA ポリメラーゼ II (PolII) レポーターの観察を進めた。また、変異体を用いた RNA-seq 解析やレポーター観察から、転写活性領域制御における PolII の脱リン酸化酵素 CPLs の重要性が示された。

シロイヌナズナ植物体では、PolII レポーターおよび抗体プローブの導入が困難であることが判明したことから、観察対象を形質転換が容易、かつプローブの導入が可能なタバコ BY-2 細胞に切り替えた。現環境での培養、形質転換系を立ち上げ、転写活性型 PolII のレポーターである生体内抗体 Ser2P-Mintbody の導入・ライブイメージングに成功した。Ser2P-mintbody を用いた転写活性領域の観察の結果、Ser2P の分布は通常状態では核内に一様に観察される一方で、転写ストレスを受けると限られた領域に、ドット上に限定化されることが明らかになった。このドット構造は予想に反し液液相分離による液滴としての性質は認められなかった。このような特殊な転写活性領域分布は、生体内では転写が高度に抑制された乾燥花粉で観察された。花粉核の免疫染色から、Ser2P のドット構造は特定のヒストン修飾と共局在することが示唆された。また、花粉では CPLs 遺伝子が高発現し、タバコ葉細胞における CPL の一過的過剰発現は Ser2P-mintbody のドット構造を大量に可視化させることも明らかにした。

今後は、培養細胞を用いて CPLs が転写活性領域を制御するプロセスをライブイメージングによって可視化し、また環境変化に応じて花粉核における転写活性領域がどのように変化していくかを観察することで、大規模な転写抑制下における生命機能の維持には、PolII のリン酸化制御によって転写活性領域が限定的に維持されることが重要な役割を持つ、という仮説を検証する。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Mio K. Shibuta and Sachihito Matsunaga, Transcriptionally Active Regions are Highly Limited in the Nucleus of the Plant Sperm Cell, CYTOLOGIA, 88(3): 1-7 (2023)