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1年次では研究課題を推進していく上で重要な、RNA ポリメラーゼ II（PolII）ダイナミクスのライブイメージングで用いる PolII レポーターの作出、CPLs レポーターラインの作出、*cpls* 変異体の純系化を進めた。

転写因子によらない転写制御の時空間的タイムスケールの測定を行うための新たなテクノロジーとして、PolII ダイナミクスのライブイメージング手法の開発に取り組んだ。PolII 最大のサブユニットである RPB1 に蛍光タンパク質を接続したコンストラクトを作製し、生体内抗体 Ser2P-Mintbody と合わせてシロイヌナズナ形質転換体の作出を計画したが、シロイヌナズナにおける RPB1 レポーターの蛍光シグナルは検出できなかった。そこで RPB1 レポーター作出の条件検討と並行し、培養細胞に2種の抗体ベースプローブを導入したイメージングシステムへのアプローチを追加し、開発を進めている。

転写伸長中の PolII を脱リン酸化することで転写抑制に機能する因子 CPLs は、転写因子によらない転写制御において重要な役割を持つことが推察される。タバコ葉を用いた CPLs の一過的過剰発現細胞の観察から、CPLs の過剰発現によって転写活性化領域の核内局在パターンが変化することが示唆された。また、シロイヌナズナ植物体における CPL1 レポーターの観察から、CPL1 は熱をはじめとした様々なストレス処理に応じて細胞内に蓄積し、またこの蓄積にはプロテアソームが関与することを示唆するデータを得た。今後は、純系化した *cpls* 変異体のストレス応答における表現型の検証、および各種レポーターラインとの掛け合わせを進め、ストレスシグナルによって CPLs のプロテアソーム分解が阻害され、PolII 脱リン酸化効率が変化することで、転写因子によらない転写制御による迅速な転写リプログラミングが駆動するという仮説を検証する。