

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	液-液相分離を介した転写制御機構のライブイメージング解析		
研究テーマ (英文)	Visualizing the role of LLPS in transcriptional regulation		
研究期間	2019年 ~ 2022年	研究機関名	東京大学 定量生命科学研究所
研究代表者	氏名	(漢字)	深谷 雄志
		(カタカナ)	フカヤ タカシ
		(英文)	Takashi Fukaya
	所属機関・職名	東京大学定量生命科学研究所・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	
		(カタカナ)	
		(英文)	
	所属機関・職名		

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

本研究では boundary element を用いて TAD を人工的に再構築する独自のレポーターシステムを駆使することにより、ゲノムの構造変化が転写制御に果たす役割を高精度に検出する実験系の構築に取り組んだ。特にショウジョウバエ初期胚を用いた転写ライブイメージング技術を用いることにより、エンハンサーの働きを一細胞解像度かつリアルタイムに測定した。その結果、boundary element が TAD の形成とは独立してエンハンサーによる転写活性化を促進するという新たな働きを持つことを見出した。特に、「転写バースト」と呼ばれる転写活性の不連続性を正に制御することで、遺伝子発現を上昇させることを発見した。以上の結果は boundary element がゲノムの構造変化というこれまで知られていた機能とは別に、エンハンサーによる転写活性化の「核内微小環境」の形成を促進するという新たな働きを持つことを強く示唆している。本研究内容は、*Molecular Cell* 誌に発表した。

加えて本研究では CRISPR/Cas9 を用いたゲノム編集技術と MS2/MCP ライブイメージング技術を組み合わせることで、ショウジョウバエ初期発生における体節構造の形成に必須な分節遺伝子の転写活性を直接可視化する独自の実験技術を構築した。さらに得られたライブイメージングデータを定量的に画像解析することで、ショウジョウバエ初期胚における一細胞ごとの転写活性の変化をリアルタイムに測定した。その結果、初期胚内における相対的な位置によって分節遺伝子は異なる頻度で転写バーストを生み出しており、その連続性の違いによって RNA 合成量が空間的に制御されていることを世界に先駆けて明らかにした。重要なことに、この仕組みはショウジョウバエで働く多くの分節遺伝子に共通して見られる普遍的な現象であることが解明された。本研究内容は、*Current Biology* 誌に発表した。

また現在は、転写バースト制御時における転写因子の核内動態について、超解像顕微鏡を用いた解析に取り組んでいる。その結果、転写因子がエンハンサー上に一過的に局所的に濃縮され、その後に転写バーストが誘導されるという新たな時間的制御メカニズムの存在が強く示唆された。転写因子の持つ天然変性領域を改変すると、濃縮効率に大きな変化が生じ、結果として転写バーストの誘導効率が大きく変動することが明らかとなった。本実験系を駆使することにより、転写バーストを生み出すより詳細な分子作用機序を明らかにしていきたい。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Visualizing the role of boundary elements in enhancer-promoter communication.				
	著者名	Yokoshi M, Segawa K, Fukaya T*.	雑誌名	<i>Molecular Cell</i>		
	ページ	224~235	発行年	2 0 2 0	巻号	78(2)
雑誌	論文課題	Dynamic modulation of enhancer responsiveness by core promoter elements in living <i>Drosophila</i> embryos.				
	著者名	Yokoshi M, Kawasaki K, Cambón M, Fukaya T*.	雑誌名	<i>Nucleic Acids Research</i>		
	ページ	92~107	発行年	2 0 2 2	巻号	50(1)
雑誌	論文課題	Dynamic regulation of anterior-posterior patterning genes in living <i>Drosophila</i> embryos.				
	著者名	Fukaya T*.	雑誌名	<i>Current Biology</i>		
	ページ	2227~2236	発行年	2 0 2 1	巻号	31(10)
雑誌	論文課題	Molecular architecture of enhancer-promoter interaction				
	著者名	Hamamoto K, Fukaya T*	雑誌名	<i>Current Opinion in Cell Biology</i>		
	ページ	62-70	発行年	2 0 2 2	巻号	74
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Formation of self-associating loop domains is a fundamental organizational feature of metazoan genomes. Here, we employed quantitative live-imaging methods to visualize impacts of higher-order chromosome topology on enhancer-promoter communication in developing *Drosophila* embryos. Evidence is provided that distal enhancers effectively produce transcriptional bursting from target promoters over distances when they are flanked with boundary elements. Importantly, neither inversion nor deletion of a boundary element abrogates this “enhancer-assisting activity,” suggesting that they can facilitate intra-domain enhancer-promoter interaction and production of transcriptional bursting independently of topologically associating domain (TAD) formation. In contrast, domain-skipping activity of distal enhancers was lost after disruption of topological domains. This observation raises a possibility that intra-domain and inter-domain enhancer-promoter interactions are differentially regulated by chromosome topology (Yokoshi *et al.*, *Mol Cell* 2020).