酵母遺伝子の転写制御†

西 沢 正 文

(慶応大学医学部)

酵母遺伝子の転写調節について、上流転写活性化配列 (UAS) に結合した転写活性化因子が TATA 配列付近に形成された転写開始複合体に活性化シグナルを伝えることにより転写を開始させるということはよく知られている。本稿ではこのドグマについて (1) 上流域で起きている調節因子間の相互作用による転写の制御と、(2) 転写活性化シグナルがどのようにして転写開始複合体に伝えられ RNA ポリメラーゼ II が転写を始めるかの 2 点についての最近の知見を紹介したい。

調節因子間の相互作用についてグルコースによる発現制御に例をとってみよう。グルコースにより負の制御 (抑制) をうける遺伝子は GAL 系や SUC 系などがある。正の制御をうけるものには解糖系酵素遺伝子群などがある。GAL 系遺伝子の発現制御には正の因子 GAL 4 と負の因子 GAL 80 が関与していることはよく知られているが、グルコース抑制について *MIG 1*, *GRR 1* という遺伝子の関与がわかってきた。*MIG 1* 蛋白質は Zn-フィンガー構造を持ち哺乳類遺伝子の調節蛋白質 Egr と相同性がある。*MIG 1* の結合部位は *GAL 1*, *GAL 4*, *SUC 2* の上流域にみられ、とくにもともと発現量の低い *GAL 4* の発現量を調節する、すなわち標的遺伝子だけでなくその調節遺伝子の発現をも調節することによりグルコース抑制を確実なものにしているようである^(1,2)。最近クローン化された *GRR 1* はやはり GAL 系, SUC 系のグルコース抑制に必要であり、とくに SUC 系においては *grr 1* 変異により発現が逆にグルコース誘導性になるということが報告されている⁽³⁾。GAL 系, SUC 系共にグルコース抑制の解除には *SNF 1* が必要であることはすでに知られていたが、GAL 系の活性化に必要な *GAL 11* が *SUC 2* の活性化にも必要である

ことが最近わかった⁽⁴⁾。このように GAL 系と SUC 系の発現制御には多くの共通な制御因子が関与していることがわかってきた。

RAP 1 は解糖系酵素遺伝子やリボソーム蛋白質遺伝子 (RPG) の正の調節因子であると同時に *HML/HMR* 遺伝子座の抑制、テロメアの構造の維持に必要な多機能因子である。酵母を窒素源飢餓下におくと RPG の発現抑制とアミノ酸生合成系の誘導という緊縮制御がみられるが、この両方に RAP 1 が関係していることがわかってきた。RPG の場合、その誘導と抑制の両方に RAP 1 が必要であり、そのエフェクターが変わることにより正あるいは負にとシグナルが変わる可能性が考えられている⁽⁵⁾。ヒスチジン生合成系に属する *HIS 4* 遺伝子の上流域には *BAS 1*, *BAS 2*, *GCN 4* の 3 種の因子の結合部位に加えて RAP 1 の結合部位が見いだされた。*bas 1 bas 2 gcn 4* の三重変異を抑圧する *sit 1*, *sit 2*, *sit 3*, *sit 4* 変異は DNA 上の RAP 1 結合部位に変異があると His⁻を抑圧できなくなることから、RAP 1 は *GCN 4* 依存性の緊縮制御による転写誘導と *BAS 1/BAS 2* 依存性の basal level の両方に必要であることがわかり⁽⁶⁾、RAP 1 の機能はさらに広範囲のものとなった。また *sit 3* は実は解糖系酵素遺伝子群の統一的制御因子である *GCR 1* の mutant allele であることがわかり、一方 *GCR 1* は解糖系酵素遺伝子上流域の RAP 1 結合部位に隣接して DNA に結合するらしいことが提起されている⁽⁷⁾。GAL 11 が RAP 1 による転写活性化に必要な因子であることはわれわれが提起している⁽⁸⁾。このように今までは別の制御系を司ると考えられていた制御因子が実は広範囲に共有されており、したがって遺伝子発現の制御機構は大きなネットワークをなしているという像がだんだん明確になりつつある (図 1)。これは分子遺伝学的技法が縦横に利用できる酵母系ならではの成果といえよう。

種々の転写調節因子の組合せによって生じる活性化シグナルはどのようにして転写開始複合体に伝えられ、

† Transcriptional Regulation of Yeast Genes.
Masafumi NISHIZAWA (Department of Microbiology, Keio University School of Medicine, Tokyo 160)

図 1 酵母遺伝子の転写制御ネットワークの例。
太線は DNA-蛋白質, 蛋白質-蛋白質相互作用が確認されているもの, 細線は遺伝的相互作用を示す。

RNA ポリメラーゼが転写を開始するのだろうか。まず転写開始複合体について述べるが、実は動物細胞の系で転写開始機構の生化学的解析がよく進んでいる。すでに基本転写因子の TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF (RAP 74/30), TFIIF, TFIIF が単離精製され、そのほとんどの cDNA がクローニングされている⁽⁹⁾。また転写開始複合体の形成を阻害する因子 (Dr, NC 1, NC 2) や転写開始点に結合する因子なども精製・クローニングされており、これら因子の結合順序=複合体の形成過程の分子レベルでの解析が非常に勢いで進んでいる。酵母では R. Kornberg のグループにより *in vitro* 転写反応を再構成するための転写因子の分画が行われ、J. Jaehning のグループで細胞抽出液を直接用いた *in vitro* 転写反応系が開発されている。しかし生化学的解析では動物細胞系に比べ遅れているといわざるをえない。その代わり、遺伝解析を生かして転写開始にかかわる遺伝子として TFIID をコードする *SPT 15*, TFIID 変異体のマルチコピーサプレッサー *TDS*, RNA ポリメラーゼ II の C 端繰り返し配列の欠損変異を抑圧する *SRB* などが単離されている。そして *spt 15* 変異の allele 特異的サプレッサーとして *spt 3* が得られ、しかも *SPT 3* と TFIID は物理的に相互作用する可能性が示されている。

転写活性化シグナルがどのようにして転写開始複合体へ伝えられるのかという問題に進もう。キメラ活性化因

子 GAL 4-VP 16 は TFIIB あるいは IID と結合するという報告があり⁽¹⁰⁾、活性化因子と基本転写因子が直接相互作用する可能性が提起されている。しかし、部分精製された TFIID 画分は転写活性化因子に反応するのに対しクローニングされた TFIID は basal level 以上には転写を活性化できないこと、*in vitro* 転写反応において UAS と TATA 配列の距離を遠ざけるに従い転写量が低下することなどから、転写活性化因子と転写開始複合体の間を仲介する因子 (coactivator) の存在が予測され⁽¹¹⁾、その後部分精製された TFIID 画分から TAF と呼ばれる因子群が単離され、活性化因子による転写活性化を増幅できることが示された⁽¹²⁾。一方 R. Roeder のグループによりやはりこの仲介役として USA という因子の精製が報告されている⁽¹³⁾。酵母においては TFIID は単量体として精製されるのでハエやヒトの場合とは異なり、TFIID と複合体を形成する coactivator の存在の可能性は低そうである。しかしわれわれの研究室で単離された *GAL 11* は UAS と TATA 配列の距離が遠いときにのみその存在が転写活性化に必要であるところから coactivator として機能している可能性が考えられ⁽⁸⁾、また過剰量の活性化因子による *in vitro* 転写反応の阻害を回復させる mediator や adaptor も同様の機能を持つと考えられる^(14,15)。いずれにせよ coactivator は何種類か存在し、それぞれがあるいはその特定の組合せが特定

図 2 転写開始複合体と転写活性化因子との相互作用
灰色で表した IIA, IIB, IID, ... は基本転写因子の TFIIA, TFIIB, TFIID, ... をそれぞれ表す。酵母の TFIIE, TFIIF, TFIIH, は現時点 (92 年 1 月) ではまだ確認されていない。CTD は RNA ポリメラーゼ II の C-端繰り返し配列 (Carboxy Terminal Domain) を表す。縁取りをして表した因子は転写開始複合体と転写活性化因子との間の仲介役をすると考えられている。太線は遺伝学的あるいは生化学的に確認された相互作用を示す。Mediator, TDS, GAL11 の標的はいまだわかっていない。

の転写活性化因子と組み合わさって転写活性化をもたらすと考え、転写制御機構は今まで考えられていたよりもずっと緻密なものであることがみえてくるだろう (図 2)。

真核細胞での転写は裸の DNA の上で起きているわけではないので転写制御には当然クロマチン構造を考えに入れねばならない。裸の DNA 上で GAL 4-VP 16 の転写活性化能はせいぜい数倍であるが、ヒストンを反応系に加えると basal level が下がるために全体の活性化度は数十倍となり *in vivo* での活性化度に近づく。このことから転写活性化因子はヌクレオソームを置き換えることにより転写開始複合体を DNA 上へ導く役割をしているのではないかとの説もある⁽¹⁶⁾。ヒストン遺伝子に変異が起きるといくつかの遺伝子の転写に異常が起きる例はすでに報告されているが、それと同じような広範囲な変異形質を示す遺伝子として、*SIN 1*⁽¹⁷⁾, *SIN 3* (= *RPD 1/UME 4*)⁽¹⁸⁾, *SPT 5*, *SPT 16/CDC 68*⁽¹⁹⁾ などがみつかり、なかには UAS を欠失した *SUC 2* の発現をも活性化できるものがある。これらの遺伝子は何らかの形で適正なクロマチン構造の形成・維持にかかわっており、その結果として転写を制御しているのではと考えられている。

HML/HMR 遺伝子座の転写を抑制するサイレンサーはクロマチン構造に加え DNA 複製も転写制御にかかわっている可能性を示している。HMR サイレナーには ARS, RAP 1 と ABF 1 それぞれの結合部位の 3 つの要素があるが、このうちの 2 つでも欠失すると脱抑制が起こる。この脱抑制変異体のサプレッサー変異株として DNA 複製に必要な *CDC 7* の変異体がとれてきたこと⁽²⁰⁾, *rap 1* 変異体や合成サイレンサーを用いた実験から ARS の機能がサイレンサー機能に必要とわかったことなどから、ARS からの DNA 複製が転写抑制に必要と考えられた⁽²¹⁾。しかしサイレンサー中の ARS は染色体上の複製開始点としては使われていないとの報告もあり⁽²²⁾、この問題にはいまだ答はでない。しかしヌクレオソームの構成要素の 1 つであるヒストン H 4 の N 端部を欠損させると *HML/HMR* 共に脱抑制されることから適正なクロマチン構造の保持がサイレンサー機能に必要であることは間違いない。

このように転写制御の研究は転写だけでなく DNA の動的構造の変化そして DNA の複製をも視点に入れて今後展開されねばならないだろう。このようなダイナミックな全体像を確立するには遺伝学的解析だけでなく同定した遺伝子の産物の機能が生化学的に解明されねば

ならない。動物細胞で進展している転写機構の生化学的解析と酵母での遺伝解析をうまく融合させることが転写研究の新展開へとつながるであろう。

- (1) J. O. Nehlin, M. Carlberg, and H. Ronne : *EMBO J.*, **10**, 3373-3377 (1991).
- (2) D. W. Griggs and M. Johnston : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **88**, 8597-8601 (1991).
- (3) J. S. Flick and M. Johnston : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 5101-5112 (1991).
- (4) L. G. Vallier and M. Carlson : *Genetics*, **129**, 675-684 (1991).
- (5) C. M. Moehle and A. G. Hinnebusch : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 2723-2735 (1991).
- (6) C. Devlin, K. T. Baldwin, D. Shore, and K. T. Arndt : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 3642-3651 (1991).
- (7) H. V. Baker : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, **88**, 9443-9447 (1991).
- (8) M. Nishizawa, Y. Suzuki, Y. Nogi, K. Matsumoto, and T. Fukasawa : *Proc. Natl. Acad. Sci., U. S. A.*, **87**, 5373-5377 (1990).
- (9) P. Cortes, O. Flores, and D. Reinberg : *Mol. Cell. Biol.*, **12**, 413-421 (1992).
- (10) Y.-S. Lin, I. Ha, E. Maldonado, D. Reinberg, and M. R. Green : *Nature*, **353**, 569-571 (1991).
- (11) B. F. Pugh and R. Tjian : *Cell*, **61**, 1187-1197 (1990).
- (12) B. D. Dynlacht, T. Hoey, and R. Tjian : *Cell*, **66**, 563-576 (1991).
- (13) M. Meisterernst, A. L. Roy, H. M. Lieu, and R. G. Roeder : *Cell*, **66**, 981-993 (1991).
- (14) S. L. Berger, D. Cress, A. Cress, S. J. Triezenberg, and L. A. Guarente : *Cell*, **61**, 1199-1208 (1990).
- (15) P. M. Flanagan, R. J. Kelleher, III, M. H. Sayre, H. Tschochner, and R. D. Kornberg : *Nature*, **350**, 436-438 (1991).
- (16) J. Workman, L. I. C. A. Taylor, and R. E. Kingston : *Cell*, **64**, 533-544 (1991).
- (17) W. Kruger and I. Herskowitz : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 4135-4146 (1991).
- (18) M. Vidal, R. Strich, R. E. Esposito, and R. F. Gaber : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 6306-6316 (1991).
- (19) E. A. Malone, C. D. Clark, A. Chiang, and F. Winston : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 5710-5717 (1991).
- (20) A. Axelrod and J. Rine : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 1080-1091 (1991).
- (21) F. J. McNally and J. Rine : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 5648-5659 (1991).
- (22) D. D. Dubey, L. R. Davis, S. A. Greenfeder, L. Y. Ong, J. Zhun, J. R. Broach, C. S. Newlon, and J. A. Huberman : *Mol. Cell. Biol.*, **11**, 5346-5355 (1991).