慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	雌の生殖細胞で機能する小分子RNAの同定と機能解析
Sub Title	Analysis of small RNAs in female germ cells
Author	蓮輪, 英毅(Hasuwa, Hidetoshi)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	PIWI-piRNA経路は生殖細胞特異的なレトロトランスポゾン抑制システムである。マウスでは, 3種のPiwi遺伝子(Piwil1, Piwil2, Piwil4)が精巣特異的に発現し, それらを欠損したマウスではPIWI interacting RNA(piRNA)がなくなると同時に, トランスポゾンの発現が亢進する。その結果, 減数分裂期の精細胞に障害が生じ, 精子形成不全となり不妊となる。一方で, 雌の生殖細胞ではPIWI-piRNAはほとんど発現しておらず, 欠損しても異常が見られない。ところが, 我々を含む複数のグループから, マウス・ ラット以外の哺乳動物細胞では雄だけでなく雌の生殖細胞においてPIWI-piRNAが強く発現していること, 雌特異的に発現するPIWIL3が存在することが明らかにされた。つまり, 哺乳類全般に保存されたPIWI-piRNAによるレトロトランスポゾンの制御メカニズムを解明するには, マウスをモデル動物として使用した研究では不十分であり, 別の実験動物を用いて解析を行うことが必須である。そこで申請者は, PIWI-piRNA研究のモデル動物として"ゴールデンハムスター"を採用し, 雌雄の生殖細胞におけるレトロトランスポゾンの制御メカニズムを個体レベルでの解明を試みた。 具体的には, ゲノム編集を用いPiwil3を欠損したハムスターを作製し, 雌性生殖細胞における表現型を観察した。その結果, Piwil3は雄では発現していないために, 正常に精子形成が起こり生殖能力は正常であったが, 雌が不妊傾向が強いことを明らかにした。不妊の原因を明らかにするために初期胚の発生を観察したところ, Piwil3欠損胚は2細胞期までは正常に発生するが, それ以降の発生に異常が生じることを明らかにした。これら雌における表現型はPiwi欠損マウスでは観察されなかった結果であり, Piwiの機能および生命現象との関わりについて新しい知見となった。 PIWI-piRNA is one of the key molecules that silence the transposable elements (TEs) in animals. In mice, three PIWI proteins (PIWIL1, PIWIL2 and PIWIL4) are expressed almost exclusively in testes and little in ovaries. Therefore, PIWI KO mice exhibit defects in spermatogenesis with an activation of LINE1, leading to male infertility. However, female KO mice show no discernible phenotype. PIWIL3 was found as ovary specific expressed PIWI in mammals except for mouse and rat. To understand possible roles of PIWIL3 proteins in mammalian ovaries, we have used the golden hamster (Syrian hamster ; Mesocricetus auratus) in which PIWIL 3 are expressed in the ovary. With the CRISPR/Cas9 system, we were able to produce PIWIL3 KO hamsters. PIWIL3 disrupted hamster featured healthy animals. However, PIWIL3 KO females showed the subfertile phenotype as a result of abnormal embryo development. Our result revealed that PIWIs have important role even in female germ line.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170294

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2018 年 4 月 10 日

2017 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師	補助額	500 （特B）千円
	氏名	蓮輪 英毅	氏名（英語）	Hidetoshi Hasuwa		

研究課題（日本語）

雌の生殖細胞で機能する小分子 RNA の同定と機能解析

研究課題（英訳）

Analysis of small RNAs in female germ cells

１．研究成果実績の概要

PIWI-piRNA 経路は生殖細胞特異的なレトロトランスポゾン抑制システムである。マウスでは、3種の Piwi 遺伝子（Piwil1, Piwil2, Piwil4）が精巣特異的に発現し、それらを欠損したマウスでは PIWI interacting RNA (piRNA)がなくなると同時に、トランスポゾンの発現が亢進する。その結果、減数分裂期の精細胞に障害が生じ、精子形成不全となり不妊となる。一方で、雌の生殖細胞では PIWI-piRNA はほとんど発現しておらず、欠損しても異常が見られない。ところが、我々を含む複数のグループから、マウス・ラット以外の哺乳動物細胞では雄だけでなく雌の生殖細胞において PIWI-piRNA が強く発現していること、雌特異的に発現する PIWIL3 が存在することが明らかにされた。つまり、哺乳類全般に保存された PIWI-piRNA によるレトロトランスポゾンの制御メカニズムを解明するには、マウスをモデル動物として使用した研究では不十分であり、別の実験動物を用いて解析を行うことが必須である。そこで申請者は、PIWI-piRNA 研究のモデル動物として“ゴールデンハムスター”を採用し、雌雄の生殖細胞におけるレトロトランスポゾンの制御メカニズムを個体レベルでの解明を試みた。
具体的には、ゲノム編集を用い Piwil3 を欠損したハムスターを作製し、雌性生殖細胞における表現型を観察した。その結果、Piwil3 は雄では発現していないために、正常に精子形成が起こり生殖能力は正常であったが、雌が不妊傾向が強いことを明らかにした。不妊の原因を明らかにするために初期胚の発
生を観察したところ、Piwil3 欠損胚は 2 細胞期までは正常に発生するが、それ以降の発生に異常が生じることを明らかにした。これら雌における表現型は Piwi 欠損マウスでは観察されなかった結果であり、Piwi の機能および生命現象との関わりについて新しい知見となった。

２．研究成果実績の概要（英訳）

PIWI-piRNA is one of the key molecules that silence the transposable elements (TEs) in animals. In mice, three PIWI proteins (PIWIL1, PIWIL2 and PIWIL4) are expressed almost exclusively in testes and little in ovaries. Therefore, PIWI KO mice exhibit defects in spermatogenesis with an activation of LINE1, leading to male infertility. However, female KO mice show no discernible phenotype.
PIWIL3 was found as ovary specific expressed PIWI in mammals except for mouse and rat.
To understand possible roles of PIWIL3 proteins in mammalian ovaries, we have used the golden hamster (Syrian hamster; Mesocricetus auratus) in which PIWIL 3 are expressed in the ovary. With the CRISPR/Cas9 system, we were able to produce PIWIL3 KO hamsters. PIWIL3 disrupted hamster featured healthy animals. However, PIWIL3 KO females showed the subfertile phenotype as a result of abnormal embryo development.
Our result revealed that PIWIs have important role even in female germ line.

３．本研究課題に関する発表

発表者氏名（著者・講演者）	発表課題名（著書名・演題）	発表学術誌名（著書発行所・講演学会）	学術誌発行年月（著書発行年月・講演年月）