

Title	領域特異的ヘテロクロマチン形成機構の解明
Sub Title	Mechanism of region-specific heterochromatin formation
Author	村野, 健作(Murano, Kensaku)
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	<p>ショウジョウバエの卵巣において, 配列情報をもつ小分子RNA(piRNA)とPiwiの複合体は, 標的トランスポゾン特異的にヘテロクロマチンを形成し, 転写反応を抑制していると考えられている。その仲介因子であるPanoramix(Panx)は, Piwiによって標的トランスポゾン領域へ係留され, ヒストンメチル化転移酵素Eggless依存的にヘテロクロマチンを形成すると報告されている [Yang Y. et al., Science (2015)]。申請者はPanxに対するモノクローナル抗体を作製し, 質量分析によってPanxの相互作用因子としてNxf2を同定した。Nxf2は卵巣特異的に発現し, siRNAを用いた発現抑制によりトランスポゾンが脱抑制された。次世代シーケンサーを用いたRNA-seq法による発現解析の結果, Nxf2, Panx, Piwiをそれぞれ発現抑制した場合に脱抑制されるトランスポゾンの種類は互いに似ていた。また, Nxf2の発現抑制によりトランスポゾン上のH3K9me3の分布量が減少した。これらの結果はNxf2がPiwi-piRNA経路によるトランスポゾン抑制に関与していることを示唆している。さらに詳細な解析を進めるため, ラムダファージ由来のλNタンパク質とBoxB RNAの相互作用を用いた係留(テザリング)システムを卵巣体細胞由来の細胞株OSCに構築した。λNタンパク質を融合したNxf2は, BoxB配列を保持したレポーターmRNA上に係留され, レポーター遺伝子の転写反応を抑制した。一方で, レポーター遺伝子上のH3K9me3の分布量に大きな変化は見られなかった。また, λN融合Nxf2による転写反応抑制は, ヒストンメチル化転移酵素Egglessに非依存的であった。以上の結果は, これまで考えられていた「ヘテロクロマチン形成を介したトランスポゾンの抑制機構」と一致しない。つまりPiwi-piRNA複合体により標的へ係留されたPanx-Nxf2複合体は, クロマチン構造を介さずに直接的に転写反応を阻害していることを示唆している。</p> <p>PIWI-interacting RNAs (piRNAs) are germ line-specific small RNAs which form the effector complexes with PIWI proteins to preserve the genome integrity by repressing transposable elements (TEs). Among PIWI-clade proteins in Drosophila, Piwi is known to transcriptionally silence their targets via heterochromatin formation. Recent studies have shown that Panoramix (Panx) interacts with Piwi-piRNA complexes to induce transcriptional repression of targets mediated by recruitment of H3K9me3 marks by Histone methyltransferase Eggless [Yang Y. et al., Science (2015)]. Here, we identified a protein named nuclear export factor 2 (Nxf2) in Panx-associated complexes. Nxf2 is specifically expressed in ovaries, and its mutations have been reported to cause infertility. Depletion of Nxf2 resulted in de-silencing of piRNA target TEs coupled with decrease of H3K9me3 levels. Enforced tethering of Nxf2 to a nascent mRNA causes co-transcriptional silencing in Ovarian Somatic Cell (OSC) carrying a reporter gene, whereas it induces only a slight epigenetic change on the reporter gene. In addition, silencing by tethering of Nxf2 is independent from Eggless. It is not consistent with previous reports suggesting that TE silencing is mediated by heterochromatin formation. Our results suggest a model in which Nxf2-Panx complex is probably tethered to a target locus through an interaction with Piwi-piRNA, and induces transcriptional regression by interfering transcription directly, but not via chromatin structure.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170298

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.

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500(特B)千円
	氏名	村野 健作	氏名(英語)	Kensaku Murano		
研究課題(日本語)						
領域特異的ヘテロクロマチン形成機構の解明						
研究課題(英訳)						
Mechanism of region-specific heterochromatin formation						
1. 研究成果実績の概要						
<p>ショウジョウバエの卵巣において、配列情報をもつ小分子RNA(piRNA)とPiwiの複合体は、標的トランスポゾン特異的にヘテロクロマチンを形成し、転写反応を抑制していると考えられている。その仲介因子であるPanoramix(Panx)は、Piwiによって標的トランスポゾン領域へ係留され、ヒストンメチル化転移酵素Eggless依存的にヘテロクロマチンを形成すると報告されている[Yang Y. et al., Science (2015)]。申請者らはPanxに対するモノクローナル抗体を作製し、質量分析によってPanxの相互作用因子としてNxf2を同定した。Nxf2は卵巣特異的に発現し、siRNAを用いた発現抑制によりトランスポゾンが脱抑制された。次世代シーケンサーを用いたRNA-seq法による発現解析の結果、Nxf2、Panx、Piwiをそれぞれ発現抑制した場合に脱抑制されるトランスポゾンの種類は互いに似ていた。また、Nxf2の発現抑制によりトランスポゾン上のH3K9me3の分布量が減少した。これらの結果はNxf2がPiwi-piRNA経路によるトランスポゾン抑制に関与していることを示唆している。さらに詳細な解析を進めるため、ラムダファージ由来のλNタンパク質とBoxB RNAの相互作用を用いた係留(テザリング)システムを卵巣体細胞由来の細胞株OSCに構築した。λNタンパク質を融合したNxf2は、BoxB配列を保持したレポーターmRNA上に係留され、レポーター遺伝子の転写反応を抑制した。一方で、レポーター遺伝子上のH3K9me3の分布量に大きな変化は見られなかった。また、λN融合Nxf2による転写反応抑制は、ヒストンメチル化転移酵素Egglessに非依存的であった。以上の結果は、これまで考えられていた「ヘテロクロマチン形成を介したトランスポゾンの抑制機構」と一致しない。つまりPiwi-piRNA複合体により標的へ係留されたPanx-Nxf2複合体は、クロマチン構造を介さずに直接的に転写反応を阻害していることを示唆している。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>PIWI-interacting RNAs (piRNAs) are germ line-specific small RNAs which form the effector complexes with PIWI proteins to preserve the genome integrity by repressing transposable elements (TEs). Among PIWI-clade proteins in Drosophila, Piwi is known to transcriptionally silence their targets via heterochromatin formation. Recent studies have shown that Panoramix (Panx) interacts with Piwi-piRNA complexes to induce transcriptional repression of targets mediated by recruitment of H3K9me3 marks by Histone methyltransferase Eggless [Yang Y. et al., Science (2015)]. Here, we identified a protein named nuclear export factor 2 (Nxf2) in Panx-associated complexes. Nxf2 is specifically expressed in ovaries, and its mutations have been reported to cause infertility. Depletion of Nxf2 resulted in de-silencing of piRNA target TEs coupled with decrease of H3K9me3 levels. Enforced tethering of Nxf2 to a nascent mRNA causes co-transcriptional silencing in Ovarian Somatic Cell (OSC) carrying a reporter gene, whereas it induces only a slight epigenetic change on the reporter gene. In addition, silencing by tethering of Nxf2 is independent from Eggless. It is not consistent with previous reports suggesting that TE silencing is mediated by heterochromatin formation. Our results suggest a model in which Nxf2-Panx complex is probably tethered to a target locus through an interaction with Piwi-piRNA, and induces transcriptional regression by interfering transcription directly, but not via chromatin structure.</p>						
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)			
村野健作	Essential function of Panoramix/Silencio-Nxf2 complex in the Drosophila Piwi-piRNA pathway	第19回日本RNA学会年会	2017年7月			
村野健作	Essential function of Panoramix/Silencio-Nxf2 complex in the Drosophila Piwi-piRNA pathway	2017年度生命科学系合同年次大会	2017年12月			