

Title	トランスポゾン抑制の開始と維持のメカニズム
Sub Title	Initiation and maintenance of transcriptional silencing of transposable elements
Author	村野, 健作(Murano, Kensaku)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>シヨ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。さらに詳細な解析を進めるため、ラムダファージ由来のラムダN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。ラムダN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リンカーヒストンH1やH3K9me3の分布量に大きな変化は見られなかった。また、ラムダN融合Nxf2による転写反応抑制は、Egglessに非依存的であった。以上の結果から、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トランスポゾンの抑制を開始していると考えられる。そこで、レポーター遺伝子におけるRNA Polymerase (Pol) IIの経時変化を検討したところ、ラムダN-Nxf2の発現にともなって全体的に分布量が減少していることがわかった。しかし、BoxB配列付近で蓄積するような現象は見られなかったことから、mRNAの伸長反応を阻害しているわけではないと考えている。先行研究において、Pol II相互作用因子であるPAF1複合体がPiwi-piRNA依存的な転写抑制に関与することが報告されている。現在、転写反応抑制開始へのPAF1複合体の関与を検討している。</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 linker histone H1 and 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. Our results suggest a model in which Nxf2-Panx complex is probably tethered to a target locus through an interaction with Piwi-piRNA, and triggers transcriptional repression by interfering transcription directly, but not via chromatin structure. In fact, enforced tethering of Nxf2 decreased the level of RNA polymerase (Pol) II on the reporter but not seem to inhibit its elongation reaction. Previous report indicated that PAF1 complex interacting with Pol II modulates transcriptional silencing mediated by Piwi-piRNA. The role of PAF1 complex on transcriptional silencing triggered by Panx-Nxf2 complex is under investigation.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180357

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	300 (A) 千円
	氏名	村野 健作	氏名 (英語)	Kensaku Murano		
研究課題 (日本語)						
トランスポゾン抑制の開始と維持のメカニズム						
研究課題 (英訳)						
Initiation and maintenance of transcriptional silencing of transposable elements						
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 Panoramic (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。さらに詳細な解析を進めるため、ラムダファージ由来のラムダ N 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。ラムダ N 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リンカーヒストン H1 や H3K9me3 の分布量に大きな変化は見られなかった。また、ラムダ N 融合 Nxf2 による転写反応抑制は、Eggless に非依存的であった。以上の結果から、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トランスポゾンの抑制を開始していると考えられる。そこで、レポーター遺伝子における RNA Polymerase (Pol) II の経時変化を検討したところ、ラムダ N-Nxf2 の発現にともなって全体的に分布量が減少していることがわかった。しかし、BoxB 配列付近で蓄積するような現象は見られなかったことから、mRNA の伸長反応を阻害しているわけではないと考えている。先行研究において、Pol II 相互作用因子である PAF1 複合体が Piwi-piRNA 依存的な転写抑制に関与することが報告されている。現在、転写反応抑制開始への PAF1 複合体の関与を検討している。</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 Panoramic (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 linker histone H1 and 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. Our results suggest a model in which Nxf2-Panx complex is probably tethered to a target locus through an interaction with Piwi-piRNA, and triggers transcriptional repression by interfering transcription directly, but not via chromatin structure. In fact, enforced tethering of Nxf2 decreased the level of RNA polymerase (Pol) II on the reporter but not seem to inhibit its elongation reaction. Previous report indicated that PAF1 complex interacting with Pol II modulates transcriptional silencing mediated by Piwi-piRNA. The role of PAF1 complex on transcriptional silencing triggered by Panx-Nxf2 complex is under investigation.</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	Piwi-piRNA によるトランスポゾン抑制は Nxf2 を介した転写制御とヘテロクロマチン形成により引き起こされる	第 41 回分子生物学会年会	2018 年 11 月			
村野健作	Nuclear RNA export factor variant triggers Piwi-piRNA-mediated co-transcriptional silencing	The 20th Takeda Science Foundation Symposium on Bioscience "RNA Neobiology"	2019 年 2 月			