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

Title	小分子非コードRNAによる生殖ゲノム安定性維持メカニズム
Sub Title	Maintaining germline genome stability by small non-coding RNAs
Author	岩崎, 由香(Iwasaki, Yuka)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	トランスポゾンをゲノムにおける「非自己遺伝子」として選択的に抑制する仕組みが生物には必須である。これを担う因子として、生殖組織で発現するPIWIタンパク質が同定された。ショウジョウバエPIWIタンパク質のうち核に局在するPiwiは、小分子非コードRNAであるpiRNAと複合体を形成し、標的トランスポゾンの転写をH3K9me3修飾やリンカーヒストンH1の安定的な結合を介して制御することが知られており、これにより生殖ゲノムの安定性が維持されている。 Piwiタンパク質が標的遺伝子をサイレンシングする際に形成する複合体構成因子を同定するために、既知の複合体構成因子Panoramix (Panx)に対する抗体を作成し、これを用いた免疫沈降により新たにNuclear export factor 2 (Nxf2)がPanxとPiwiさらに核外輸送因子p15(Nxt1)と複合体を形成することを明らかにした。Nxf2は卵巣特異的に発現し、RNA核外輸送因子Nxf1と類似したドメイン構造をもつことが知られているが、その機能は未知である。ショウジョウバエ個体の解析結果から、Nxf2がPiwiと同様に不妊の原因遺伝子であることを見出した。さらに、培養細胞を用いたNxf2ノックダウン条件下でのRNA-seqおよびChIP-seq解析により、Nxf2はPiwi-piRNA経路でH3K9me3修飾を制御し、標的トランスポゾンを抑制することを示した。加えて、CLIP-seq解析によりNxf2はトランスポゾンの新生RNAにPiwiを安定的に結合させていることを同定した。また、Nxf2を人工的にレポーター遺伝子にテザリングする実験系を用いた解析により、Nxf2による標的遺伝子の転写抑制からH3K9me3修飾やH1結合といったクロマチン状態の変化が起こるまでにはタイムラグがあることを明らかにした。これらの結果から、Piwi-piRNA経路はNxf2を介して標的トランスポゾンの転写を抑制した後に、ヒストン修飾等により抑制状態を維持しているという新たな制御モデルを提唱した。 PIWI-interacting RNAs (piRNAs) are germline-specific small RNAs that form effector complexes with PIWI proteins (Piwi–piRISC complexes) to preserve genomic integrity by repressing transposable elements (TEs). Among PIWI-clade proteins in Drosophila, Piwi transcriptionally silences its targets via heterochromatin formation characterised by H3K9me3 marks and the linker histone H1. Recent studies have shown that Panoramix (Panx) interacts with Piwi–piRISC complexes to induce transcriptional repression of targets mediated by the recruitment of H3K9me3 marks. Here, we identified Nxf2, a nuclear RNA export factor (NXF) variant, as a protein that forms a complex with Panx and Piwi. Nxf2 further associates with p15 (Nxt1), a co-adaptor for nuclear RNA export. However, unlike Nxf1 that plays a major role in mRNA export, Nxf2–p15 instead transcriptionally regulates TEs in the Piwi–piRNA pathway. Panx–Nxf2–p15 complex formation is necessary in the silencing by stabilizing protein levels of Nxf2 and Panx. Notably, ectopic targeting of Nxf2 initiates co-transcriptional repression of the target reporter in a manner independent of H3K9me3 marks or H1. However, continuous silencing requires HP1a and H1. The amino-terminal domain of Nxf2 harbouring RNA binding activity is essential for recruitment of the Piwi–piRISC complex to target TEs. Indeed, Nxf2 directly interacts with target TE transcripts in a Piwi-dependent manner. These findings suggest a model in which the Nxf2–Panx–p15 complex enforces the association of Piwi with target transcripts to trigger co-transcriptional repression, prior to heterochromatin formation in the nuclear piRNA pathway. Our results provide an unexpected connection between an NXF variant and small RNA-mediated co-transcriptional silencing.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190149

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.

2020 年 3 月 7 日

2019 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	岩崎 由香	氏名（英語）	Yuka Iwasaki		

研究課題（日本語）

小分子非コード RNA による生殖ゲノム安定性維持メカニズム

研究課題（英訳）

Maintaining germline genome stability by small non-coding RNAs

１．研究成果実績の概要

トランスポゾンをゲノムにおける「非自己遺伝子」として選択的に抑制する仕組みが生物には必須である。これを担う因子として、生殖組織で発現する PIWI タンパク質が同定された。ショウジョウバエ PIWI タンパク質のうち核に局在する Piwi は、小分子非コード RNA である piRNA と複合体を形成し、標的トランスポゾンの転写を H3K9me3 修飾やリンカーヒストン H1 の安定的な結合を介して制御することが知られており、これにより生殖ゲノムの安定性が維持されている。
Piwi タンパク質が標的遺伝子をサイレンシングする際に形成する複合体構成因子を同定するために、既知の複合体構成因子 Panoramix (Panx)に対する抗体を作成し、これを用いた免疫沈降により新たに Nuclear export factor 2 (Nxf2)が Panx と Piwi さらに核外輸送因子 p15(Nxt1)と複合体を形成することを明らかにした。Nxf2 は卵巣特異的に発現し、RNA 核外輸送因子 Nxf1 と類似したドメイン構造をもつことが知られているが、その機能は未知である。ショウジョウバエ個体の解析結果から、Nxf2 が Piwi と同様に不妊の原因遺伝子であることを見出した。さらに、培養細胞を用いた Nxf2 ノックダウン条件下での RNA-seq および ChIP-seq 解析により、Nxf2 は Piwi-piRNA 経路で H3K9me3 修飾を制御し、標的トランスポゾンを抑制することを示した。加えて、CLIP-seq 解析により Nxf2 はトランスポゾンの新生 RNA に Piwi を安定的に結合させていることを同定した。また、Nxf2 を人工的にレポーター遺伝子にテザリングする実験系を用いた解析により、Nxf2 による標的遺伝子の転写抑制から H3K9me3 修飾や H1 結合といったクロマチン状態の変化が起こるまでにはタイムラグがあることを明らかにした。これらの結果から、Piwi-piRNA 経路は Nxf2 を介して標的トランスポゾンの転写を抑制した後に、ヒストン修飾等により抑制状態を維持しているという新たな制御モデルを提唱した。

２．研究成果実績の概要（英訳）

PIWI-interacting RNAs (piRNAs) are germline-specific small RNAs that form effector complexes with PIWI proteins (Piwi-piRISC complexes) to preserve genomic integrity by repressing transposable elements (TEs). Among PIWI-clade proteins in Drosophila, Piwi transcriptionally silences its targets via heterochromatin formation characterised by H3K9me3 marks and the linker histone H1. Recent studies have shown that Panoramix (Panx) interacts with Piwi-piRISC complexes to induce transcriptional repression of targets mediated by the recruitment of H3K9me3 marks. Here, we identified Nxf2, a nuclear RNA export factor (NXF) variant, as a protein that forms a complex with Panx and Piwi. Nxf2 further associates with p15 (Nxt1), a co-adaptor for nuclear RNA export. However, unlike Nxf1 that plays a major role in mRNA export, Nxf2-p15 instead transcriptionally regulates TEs in the Piwi-piRNA pathway. Panx-Nxf2-p15 complex formation is necessary in the silencing by stabilizing protein levels of Nxf2 and Panx. Notably, ectopic targeting of Nxf2 initiates co-transcriptional repression of the target reporter in a manner independent of H3K9me3 marks or H1. However, continuous silencing requires HP1a and H1. The amino-terminal domain of Nxf2 harbouring RNA binding activity is essential for recruitment of the Piwi-piRISC complex to target TEs. Indeed, Nxf2 directly interacts with target TE transcripts in a Piwi-dependent manner. These findings suggest a model in which the Nxf2-Panx-p15 complex enforces the association of Piwi with target transcripts to trigger co-transcriptional repression, prior to heterochromatin formation in the nuclear piRNA pathway. Our results provide an unexpected connection between an NXF variant and small RNA-mediated co-transcriptional silencing.

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）
#Murano K., #,*Iwasaki Y.W. (#: co-first author, *: co-correspondence), Ishizu H., Mashiko A., Kondo S., Adachi S., Saori S., Saito K., Natsume T., Siomi M.C., *Siomi H.	Nuclear RNA export factor variant initiates piRNA - guided co - transcriptional silencing	EMBO Journal	e102870 (2019)
Yuka W. Iwasaki, Haruhiko Siomi	Piwi-piRNA silencing-coupled changes of nuclear architecture in Drosophila	若手研究フォーラム［大阪大学医学系研究フォーラム］	2019 年 9 月 17 日