

Title	レトロトランスポゾンMERVLによるマウス2細胞期様細胞ゲノム高次構造制御機構の解析
Sub Title	The mechanistic relationship between MERVL retrotransposons and higher-order genome structure in mouse 2C-like cells
Author	石津, 大嗣(Ishizu, Hirotugu)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2021
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>マウス胚発生では、分化全能性を備える2細胞期胚特異的にMERVLと呼ばれる哺乳類進化過程に感染したレトロウイルス由来のレトロトランスポゾンが発現する。また、マウスES細胞培養において約1%の割合でMERVLを発現する2細胞期様細胞が出現し、この細胞が全能性を持つことが示唆されている。しかし、発生過程および2細胞期様細胞においてMERVLがどのように全能性制御に関与するのかについてはわかっていない。ゲノム中に数千コピー存在するMERVLの2細胞期胚における一過的な発現は、広範な領域でのクロマチンリモデリングを介した網羅的かつ協調的な遺伝子発現変動を誘起すると考えられる。そこで本研究では、マウス2細胞期様細胞において核内に留まるMERVL RNAが、ゲノム高次構造の変化を介して2細胞期様細胞特異的な遺伝子の発現を制御するかどうかを検証した。Chromatin Isolation by RNA Purification (ChIRP)法を用いて、MERVL RNAがどのようなゲノム領域に局在化するか調べた結果、MERVLコード領域のクロマチンが単離された。このことは、新生MERVL RNAが転写後速やかに核外移行せず、転写領域に繫留されることを示唆する。また、MERVLコード領域以外のクロマチン部位も複数同定されており、MERVL RNAが核内non-coding RNAとしてトランスに特定のゲノム領域に作用することが示唆された。今後はMERVL RNAと相互作用するタンパク質を同定し、MERVL RNAがクロマチンリモデリングを介したゲノム構造制御に関与するかどうかを明らかにする。また、核内MERVL RNAの機能を明らかにするためにアンチセンスオリゴを用いたノックダウンを行った。MERVL RNAを標的とするアンチセンスオリゴを複数作製し、マウスES細胞と受精卵に導入することで、MERVL発現を抑制できることを確かめた。機能阻害実験の結果、MERVLをノックダウンしたES細胞では、2細胞期様細胞からES細胞への転換が異常となることがわかった。</p> <p>In mouse embryogenesis, a retrotransposon derived from a retrovirus infected during mammalian evolution, called MERVL, is expressed specifically in 2-cell stage embryos. In addition, 2-cell stage-like cells expressing MERVL appear in about 1% of mouse ES cell cultures, which indicates that these cells are totipotent. However, it is not known how MERVL is involved in the regulation of totipotency during development and in 2 cell-like cells. Transient expression of thousands of copies of MERVL in the genome in 2-cell stage embryos may result in comprehensive and coordinated gene expression changes via chromatin remodeling in a wide range of regions. In this study, we tested whether nuclear-resident MERVL RNA regulates the expression of 2 cell-like cell-specific genes through changes in genomic higher-order structure in mouse 2 cell-like cells. We used the Chromatin Isolation by RNA Purification (ChIRP) method to determine which genomic regions MERVL RNA localizes to and identified chromatin in the MERVL coding region. The chromatin of the MERVL encoded region was isolated, suggesting that the nascent MERVL RNA is not rapidly translocated out of the nucleus after transcription, but is retained in the transcribed region. In addition, several chromatin sites other than the MERVL coding region were also identified, suggesting that MERVL RNA acts on specific genomic regions in trans as nuclear non-coding RNA. In the future, we will identify proteins that interact with MERVL RNA to clarify whether MERVL RNA is involved in the regulation of genome structure through chromatin remodeling. To elucidate the function of MERVL RNA in the nucleus, we performed knockdown experiments using antisense oligos and confirmed that MERVL expression can be suppressed by introducing several antisense oligos targeting MERVL RNA into mouse ES cells and fertilized eggs. The results of knockdown experiments showed that the transition from 2 cell-like cells to ES cells was impaired in MERVL knockdown ES cells.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2020000008-20200224

研究代表者	所属	医学部基礎教室	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	500 (特B)千円
	氏名	石津 大嗣	氏名 (英語)	Hirotsugu Ishizu		
研究課題 (日本語)						
レトロトランスポゾン MERV1 によるマウス2細胞期様細胞ゲノム高次構造制御機構の解析						
研究課題 (英訳)						
The mechanistic relationship between MERV1 retrotransposons and higher-order genome structure in mouse 2C-like cells						
1. 研究成果実績の概要						
<p>マウス胚発生では、分化全能性を備える2細胞期胚特異的に MERV1 と呼ばれる哺乳類進化過程に感染したレトロウイルス由来のレトロトランスポゾンが発現する。また、マウス ES 細胞培養において約1%の割合で MERV1 を発現する2細胞期様細胞が出現し、この細胞が全能性を持つことが示唆されている。しかし、発生過程および2細胞期様細胞において MERV1 がどのように全能性制御に関与するのかについてはわかっていない。ゲノム中に数千コピー存在する MERV1 の2細胞期胚における一過的な発現は、広範な領域でのクロマチンリモデリングを介した網羅的かつ協調的な遺伝子発現変動を誘起すると考えられる。そこで本研究では、マウス2細胞期様細胞において核内に留まる MERV1 RNA が、ゲノム高次構造の変化を介して2細胞期様細胞特異的遺伝子の発現を制御するかどうかを検証した。Chromatin Isolation by RNA Purification (ChIRP) 法を用いて、MERV1 RNA がどのようなゲノム領域に局在化するかを調べた結果、MERV1 コード領域のクロマチンが単離された。このことは、新生 MERV1 RNA が転写後速やかに核外移行せず、転写領域に繫留されることを示唆する。また、MERV1 コード領域以外のクロマチン部位も複数同定されており、MERV1 RNA が核内 non-coding RNA としてトランスに特定のゲノム領域に作用することが示唆された。今後は MERV1 RNA と相互作用するタンパク質を同定し、MERV1 RNA がクロマチンリモデリングを介したゲノム構造制御に関与するかどうかを明らかにする。また、核内 MERV1 RNA の機能を明らかにするためにアンチセンスオリゴを用いたノックダウンを行った。MERV1 RNA を標的とするアンチセンスオリゴを複数作製し、マウス ES 細胞と受精卵に導入することで、MERV1 発現を抑制できることを確かめた。機能阻害実験の結果、MERV1 をノックダウンした ES 細胞では、2細胞期様細胞から ES 細胞への転換が異常となることがわかった。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>In mouse embryogenesis, a retrotransposon derived from a retrovirus infected during mammalian evolution, called MERV1, is expressed specifically in 2-cell stage embryos. In addition, 2-cell stage-like cells expressing MERV1 appear in about 1% of mouse ES cell cultures, which indicates that these cells are totipotent. However, it is not known how MERV1 is involved in the regulation of totipotency during development and in 2 cell-like cells. Transient expression of thousands of copies of MERV1 in the genome in 2-cell stage embryos may result in comprehensive and coordinated gene expression changes via chromatin remodeling in a wide range of regions. In this study, we tested whether nuclear-resident MERV1 RNA regulates the expression of 2 cell-like cell-specific genes through changes in genomic higher-order structure in mouse 2 cell-like cells. We used the Chromatin Isolation by RNA Purification (ChIRP) method to determine which genomic regions MERV1 RNA localizes to and identified chromatin in the MERV1 coding region. The chromatin of the MERV1 encoded region was isolated, suggesting that the nascent MERV1 RNA is not rapidly translocated out of the nucleus after transcription, but is retained in the transcribed region. In addition, several chromatin sites other than the MERV1 coding region were also identified, suggesting that MERV1 RNA acts on specific genomic regions in trans as nuclear non-coding RNA. In the future, we will identify proteins that interact with MERV1 RNA to clarify whether MERV1 RNA is involved in the regulation of genome structure through chromatin remodeling. To elucidate the function of MERV1 RNA in the nucleus, we performed knockdown experiments using antisense oligos and confirmed that MERV1 expression can be suppressed by introducing several antisense oligos targeting MERV1 RNA into mouse ES cells and fertilized eggs. The results of knockdown experiments showed that the transition from 2 cell-like cells to ES cells was impaired in MERV1 knockdown ES cells.</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)			