

Title	初期胚発生と全能性制御におけるトランスポゾンの役割
Sub Title	Role of retrotransposons in early embryonic development and totipotency control
Author	村野, 健作(Murano, Kensaku)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2021
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2020.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>マウスの内在性レトロウイルスMuERVL (マーブル) はゲノムの1000ヶ所以上に存在するレトロトランスポゾンの一つである。初期胚発生の2細胞期に活性化した後、徐々に減少し着床前の胚盤胞ではほとんど検出されなくなる。また、ES細胞集団のうち0.1%の細胞は「2細胞期様細胞 (2C-like細胞) 」と呼ばれ、胚体外組織に分化が可能な全能性を保持していることが報告されている(Macfarlan et al., Nature 2012)。興味深いことに、「2C-like細胞」はMuERVLの構造タンパク質であるGagを高発現している。しかし、MuERVL自体がコードするタンパク質やRNAが、どのように初期胚発生に関わるのか、どのようにES細胞の全能性獲得に寄与するのかについてはほとんど手付かずの課題となっている。本研究では、初期胚発生と全能性制御機構におけるMuERVLの役割解明に取り組んでいる。</p> <p>MuERVLの機能を明らかにするため、2細胞期特異的転写因子DUXを誘導発現することができるES細胞株を構築した。転写因子DUXはES細胞を2C-like細胞へと遷移させ、同時にMuERVL LTR制御下のFlag-Gagを発現誘導することができる。抗Flag抗体と独自に作製したモノクローナル抗Gag抗体を用いて相互作用因子の探索を行ったところ、転写因子DUXを同定した。DUX抗体を作製し、免疫沈降法によりGagとDUXの相互作用を確認した。DUXの転写促進活性を検討するため、MuERVL LTRの下流にルシフェラーゼ遺伝子を配置したレポーターシステムを構築した。この系にGagを発現させると、DUXによる転写活性が抑制された。以上の結果から、マウス2細胞期胚におけるGagの発現は2細胞期特異的なトランスクリプトームから脱却し、胚発生を促すと考えられる。現在、2細胞期後期におけるGagとDUXの細胞内局在について検討している。</p> <p>The mouse endogenous retrovirus MuERVL is one of the retrotransposons present in more than 1000 copies in the genome. After activation during the two-cell stage of early embryogenesis, it gradually decreases and is almost undetectable in the blastocyst before implantation. It has also been reported that 0.1% of cells in the ES cell population are termed "two-cell stage like cells (2C-like cells)" and retain their pluripotency to differentiate into extracellular tissues (Macfarlan et al., Nature 2012). Interestingly, the 2C-like cells highly express Gag, a structural protein of MuERVL. However, how the proteins and RNAs encoded by MuERVL itself are involved in early embryonic development and how they contribute to the acquisition of pluripotency in ES cells remain unknown. In this study, we are trying to elucidate the role of MuERVL in early embryogenesis and totipotency control.</p> <p>To clarify the role of MuERVL, we constructed an ES cell line capable of inducing expression of the 2C stage-specific transcription factor DUX. It transitions ES cells to 2C-like cells and simultaneously induces the expression of Flag-Gag driven by MuERVL LTR. Immunoprecipitations using anti-Flag and Gag antibodies, followed by MS analysis, identified DUX. We raised an anti-DUX antibody and confirmed the interaction between Gag and DUX by immunoprecipitation and western blotting. To reveal DUX control mechanism, we establish a reporter system consisting of luciferase gene driven by MuERVL LTR. Expression of Gag inhibited the transcription activity of DUX. This result suggested that transient expression of Gag in 2C embryo promotes the transition of transcriptome from 2C stage, and therefore early embryogenesis. We are going to examine cellular localization of DUX and Gag in 2C late-stage embryo.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-00002020-0054

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	千円
	氏名	村野 健作	氏名(英語)	Kensaku Murano			
研究課題(日本語)							
初期胚発生と全能性制御におけるトランスポゾンの役割							
研究課題(英訳)							
Role of retrotransposons in early embryonic development and totipotency control							
研究組織							
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position					
村野健作(Kensaku Murano)		医学部・分子生物学教室・助教					
1. 研究成果実績の概要							
<p>マウスの内在性レトロウイルス MuERVL(マーブル)はゲノムの 1000 ヶ所以上に存在するレトロトランスポゾンの一つである。初期胚発生期の 2 細胞期に活性化した後、徐々に減少し着床前の胚盤胞ではほとんど検出されなくなる。また、ES 細胞集団のうち 0.1% の細胞は「2 細胞期様細胞(2C-like 細胞)」と呼ばれ、胚体外組織に分化が可能な全能性を保持していることが報告されている(Macfarlan et al., Nature 2012)。興味深いことに、「2C-like 細胞」は MuERVL の構造タンパク質である Gag を高発現している。しかし、MuERVL 自体がコードするタンパク質や RNA が、どのように初期胚発生に関わるのか、どのように ES 細胞の全能性獲得に寄与するのかについてはほとんど手付かずの課題となっている。本研究では、初期胚発生と全能性制御機構における MuERVL の役割解明に取り組んでいる。</p> <p>MuERVL の機能を明らかにするため、2 細胞期特異的転写因子 DUX を誘導発現することができる ES 細胞株を構築した。転写因子 DUX は ES 細胞を 2C-like 細胞へと遷移させ、同時に MuERVL LTR 制御下の Flag-Gag を発現誘導することができる。抗 Flag 抗体と独自に作製したモノクローナル抗 Gag 抗体を用いて相互作用因子の探索を行ったところ、転写因子 DUX を同定した。DUX 抗体を作製し、免疫沈降法により Gag と DUX の相互作用を確認した。DUX の転写促進活性を検討するため、MuERVL LTR の下流にルシフェラーゼ遺伝子を配置したレポーターシステムを構築した。この系に Gag を発現させると、DUX による転写活性が抑制された。以上の結果から、マウス 2 細胞期胚における Gag の発現は 2 細胞期特異的なトランスクリプトームから脱却し、胚発生を促すと考えられる。現在、2 細胞期後期における Gag と DUX の細胞内局在について検討している。</p>							
2. 研究成果実績の概要(英訳)							
<p>The mouse endogenous retrovirus MuERVL is one of the retrotransposons present in more than 1000 copies in the genome. After activation during the two-cell stage of early embryogenesis, it gradually decreases and is almost undetectable in the blastocyst before implantation. It has also been reported that 0.1% of cells in the ES cell population are termed "two-cell stage like cells (2C-like cells)" and retain their pluripotency to differentiate into extracellular tissues (Macfarlan et al., Nature 2012). Interestingly, the 2C-like cells highly express Gag, a structural protein of MuERVL. However, how the proteins and RNAs encoded by MuERVL itself are involved in early embryonic development and how they contribute to the acquisition of pluripotency in ES cells remain unknown. In this study, we are trying to elucidate the role of MuERVL in early embryogenesis and totipotency control.</p> <p>To clarify the role of MuERVL, we constructed an ES cell line capable of inducing expression of the 2C stage-specific transcription factor DUX. It transitions ES cells to 2C-like cells and simultaneously induces the expression of Flag-Gag driven by MuERVL LTR. Immunoprecipitations using anti-Flag and Gag antibodies, followed by MS analysis, identified DUX. We raised an anti-DUX antibody and confirmed the interaction between Gag and DUX by immunoprecipitation and western blotting. To reveal DUX control mechanism, we establish a reporter system consisting of luciferase gene driven by MuERVL LTR. Expression of Gag inhibited the transcription activity of DUX. This result suggested that transient expression of Gag in 2C embryo promotes the transition of transcriptome from 2C stage, and therefore early embryogenesis. We are going to examine cellular localization of DUX and Gag in 2C late-stage embryo.</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)				