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	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 トランスポジンの一つである。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細胞薬団のうち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(M acfarlan 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 解明に取り組んている。 MUERVLの機能を明らかとするため、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E S細胞株を構築した。転写因子DUXはES細胞な2C-like細胞へと遷移させ、同時にMUERVLIRV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Ga g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を誘導たによりイのローナル抗Ga g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を転望した。EDVX抗体を作製し 免疫沈除法により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、MU ERVLITR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G ag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。 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). Interesting the two cell stage of early embryogenesis, aid totioptency control. To clarify the role of MUERVL iself are involved in early embryogenesis and totioptency control. To clarify the role of MUERVL, we constructed an ES cell ine cable of inducing expression of the 2C stage-specific transcription factor DUX. It transitions ES cells 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 immunoprecipitations using anti-Flag and Gag anti
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.

## 2020年度 福澤基金研究補助研究成果実績報告書

2020 -		11辛本亚则70111190	则元拟不大加	貝拟口盲				
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				
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 retrotra	ansposons in ea	arly embryonic development ar	nd totipotency (	control				
			研究組織					
氏	名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position					
村野健作(Ker	isaku Murano)	医学部 分子生物学	教室·助教					
Nature 2012)。 ードするタンパ とんど手付かす MuERVL の構 DUX は ES 細用 独自に作製した し、免疫沈降法 ゼ遺伝子を配置 ら、マウス 2 細	興味深いことに ク質や RNA が での課題となって 能を明らかとで を 2C-like 細り こモノクローナル により Gag と E 置したレポーター 胞期胚における	<ol> <li>シ」と呼ばれ、胚体外組織に 、「2C-like 細胞」は MuERVL ( 、どのように初期胚発生に関れ ている。本研究では、初期胚発 するため、2 細胞期特異的転号 抱へと遷移させ、同時に MuEl が抗 Gag 抗体を用いて相互作) DUX の相互作用を確認した。 ーシステムを構築した。この系 る Gag の発現は 2 細胞期特異 UX の細胞内局在について検討</li> </ol>	の構造タンパク わるのか、どの 注生と全能性制 写因子 DUX を RVL LTR 制御 用因子の転写服 の転写 の転 の に Gag を発現さ いる。 いる。	質である Gag を高発現してい ように ES 細胞の全能性獲得 即機構における MuERVL の役 秀導発現することができる ES 下の Flag-Gag を発現誘導する 行ったところ、転写因子 DUX 経活性を検討するため、MuER たせると、DUX による転写活性 リプトームから脱却し、胚発生	る。しかし、MuE に寄与するのか 割解明に取り約 細胞株を構築し ることができる。 を同定した。DU /L LTR の下流 が抑制された。	RVL 自体が= いについてはほ んでいる。 した。転写因子 抗 Flag 抗体 と JX 抗体を作り にルシフェラー 以上の結果の		
		2. 研究	成果実績の概要	要(英訳)				
activation durin before implanta cells)" and reta cells highly ex- involved in ear this study, we a To clarify the n factor DUX. It Immunoprecipit and confirmed we establish a activity of DUX	ng the two-cell ition. It has also ain their pluripo press Gag, a s ly embryonic d are trying to elu role of MuERVI transitions ES ations using ar the interaction reporter syste C. This result so	virus MuERVL is one of the I stage of early embryogenes o been reported that 0.1% of c tency to differentiate into ext structural protein of MuERVL evelopment and how they con ucidate the role of MuERVL in _, we constructed an ES cell cells to 2C-like cells and sim nti-Flag and Gag antibodies, f between Gag and DUX by imm m consisting of luciferase ge uggested that transient expre embryogenesis. We are going f	sis, it gradually ells in the ES of cracellular tissue. However, how ntribute to the early embryoge line capable of nultaneously inc followed by MS munoprecipitation ne driven by M ssion of Gag in to examine cellu	r decreases and is almost ur ell population are termed "two es (Macfarlan et al., Nature 20 w the proteins and RNAs en acquisition of pluripotency in enesis and totipotency control inducing expression of the 20 duces the expression of Flag- analysis, identified DUX. We on and western blotting. To re luERVL LTR. Expression of G 2C embryo promotes the tra- ular localization of DUX and G	ndetectable in o-cell stage like 012). Interesting icoded by MuE n ES cells rema l. C stage-specifi -Gag driven by raised an anti- eveal DUX contr ag inhibited th unsition of trans	the blastocys e cells (2C-lik, gly, the 2C-lik, RVL itself an in unknown. I c transcriptio MuERVL LTF -DUX antibod rol mechanism e transcriptio scriptome fror		
3.本研究課題に関する発表								
発表者 (著者・	脊氏名 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 (著書発行年)			