

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(S)

研究期間：2008～2012

課題番号：20221008

研究課題名(和文) 転移因子と Argonaute の軍拡競争からゲノムの進化を探る

研究課題名(英文) Fathoming the evolution of gene regulation through an ‘arms race’ between transposons and Argonautes

研究代表者

塩見 春彦 (SIOMI HARUHIKO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：60202107

研究分野：RNA 生物学

科研費の分科・細目：ゲノム科学・基礎ゲノム科学

キーワード：転移因子、RNA サイレンシング、Argonaute、ゲノム、進化

## 1. 研究計画の概要

ヒトやマウスの miRNA-AGO2 複合体に代表される小分子 RNA と Argonaute タンパク質の複合体 (RNA Induced Silencing Complexes/RISCs) が関与する遺伝子抑制機構は RNA サイレンシングと呼ばれる。転移因子 (transposable element/TE) と RNA サイレンシング機構の間の ‘軍拡競争’ の結果が複雑な遺伝子発現制御を進化させ、それらが特に Argonaute を中核とする ‘生命活動を支えるプログラム’ に組み込まれてきたことを理解する。

## 2. 研究の進捗状況

これまで以下の研究を実施した。

(1) TE由来の小分子 RNA (piRNA や内在性 siRNA) が宿主遺伝子の発現制御に関与している可能性についての検討：ショウジョウバエ Argonaute タンパク質である AGO1、AGO2、AGO3、Aub、そして Piwi に対する特異的なモノクローナル抗体をそれぞれ作成し、それらを用いて、免疫沈降法にてそれぞれの複合体を精製した。それら複合体に含まれるタンパク質と小分子 RNA をそれぞれ質量分析法と次世代型シーケンサーにて解析した。得られた数百万リードの小分子 RNA 配列情報の解析結果に基づき、生化学的及び遺伝学的な解析を行い、小分子 RNA の生合成と TE の抑制がカップルしていることを明らかにした。

(2) エピジェネティックな TE 抑制機構とその宿主遺伝子発現制御への関与：生殖細胞特異的な Piwi/Aub/AGO3-piRNA 複合体の解析を中心に進めた。piRNA の配列情報に基づき、標的遺伝子候補 (TE 及び細胞の遺伝子) を探索し、それら遺伝子の

発現抑制機構を、特に生殖細胞系体細胞の培養細胞である OSC (ovarian somatic cells) を用いて進めた。その結果、細胞接着因子 fasIII が Piwi-piRNA 複合体の標的遺伝子であることを見いだした。さらに、OSC を用いた RNAi スクリーニングの系を立ち上げ、piRNA 生合成及び TE 抑制に関する遺伝子を幾つか同定した。また、TE 抑制機構には細胞質における TE 転写産物の切断による抑制と核における転写レベルの抑制が存在することを明らかにした。

(3) RNA サイレンシング機構の異常・破綻に伴う疾患の分子機序の解析：遺伝性の精神遅滞症としては最も頻度の高い疾患である脆弱 X 症候群の原因遺伝子 FMR1 を用いて進めている。ショウジョウバエ FMR1 相同遺伝子産物 (dFMR1) は AGO2 と相互作用するが、この AGO2 が TE 由来の endo-siRNA と相互作用していることを見いだした。これは胚由来の培養細胞 (S2) を用いた成果であるが、現在、脳から AGO2-dFMR1-endo-siRNA 複合体を単離精製し、神経系における TE の活性と神経細胞の機能との関連の解析を進めている。

## 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。RNA サイレンシング研究は、現在、極めて競争の激しい研究分野になっている。このような分野で成果を世界に向けて発信して行くためには、やり方がどこか他の研究者とは違うという個別性を生み出す必要がある。私たちの研究グループでは生化学、遺伝学、生物情報学を組み合わせる新しいタイプの研究スタイルを生み出しつつある。目標に挙げた幾つかの点は大きな進展があり、それを一流

誌に発表できたことは順調に研究が進んでいると言える。

#### 4. 今後の研究の推進方策

これまでと同様、生化学的な解析を中心に進めて行く。我々は既にショウジョウバエ卵巣由来の体細胞培養株 (OSC) を樹立したが、これを用いて Piwi による TE 抑制機構の理解を深める。その上で、その仕組みがどのように細胞の遺伝子の発現制御に借用されているかを理解して行く。これらの研究を進めて行くために、バイオインフォマティクスや大量データ処理のトレーニングを受けた学位取得者をポスドクとしてリクルートし、ベンチワークもできるようにトレーニングする。

#### 5. 代表的な研究成果

[雑誌論文](計 21 件)

代表原著論文:

1. Saito, K., Ishizu, H., Komai, M., Kotani, H., Kawamura, Y., Nishida, K.M., Siomi, H., and Siomi, M.C. 2010. Roles for the Yb body components Armitage and Yb in primary piRNA biogenesis in *Drosophila*. *Genes & Development* 24: 2493-2498.
2. Nagao, A., Mituyama, T., Huang, H., Chen, D., Siomi, M.C., Siomi, H. 2010. Biogenesis pathways of piRNAs loaded onto AGO3 in the *Drosophila*. *RNA* 16: 2503-2515.
3. Miyoshi, T., Takeuchi, A., Siomi, H. and Siomi, M.C. 2010. A direct role of Hsp90 in pre-RISC formation in *Drosophila*. *Nature Structural and Molecular Biology* 17: 1024-1026.
4. Nishida, K.M., Okada, T.N., Kawamura, T., Mituyama, T., Kawamura, Y., Inagaki, S., Huang, H., Chen, D., Kodama, T., Siomi, H., and Siomi, M.C. 2009. Functional involvement of Tudor and dPRMT5 in the piRNA processing pathway in *Drosophila* germlines. *EMBO J.* 28: 3820-3831.
5. Saito, K., Inagaki, S., Mituyama, T., Kawamura, Y., Ono, Y., Sakota, E., Kotani, H., Asai, K., Siomi, H. and Siomi, M.C. 2009. A regulatory circuit for piwi by traffic jam, a large Maf, in *Drosophila* gonadal somas. *Nature* 461: 1296-1299.
6. Kawamura, Y., Saito, K., Kin, T., Ono, Y., Asai, K., Sunohara, T., Okada, T.N., Siomi, M.C. and Siomi, H. 2008. *Drosophila* endogenous small

RNAs bind to Argonaute2 in somatic cells. *Nature* 453: 793-797.

代表総説:

1. Siomi, H., and Siomi, M.C. 2009. RISC hitchhikes onto endosome trafficking. *Nature Cell Biology* 11: 1049-1051.
2. Siomi, H., and Siomi, M.C. 2009. On the road to reading the RNA interference code. *Nature* 457: 396-404.
3. Siomi, M.C., Mannen, T., and Siomi, H. 2010. How does the royal family of Tudor rule the Piwi-interacting RNA pathway? *Genes & Development* 24: 636-646.

[学会発表](計 57 件、うち海外 15 件)

代表的発表

1. The New York Academy of Sciences, "Piwi-interacting RNAs (piRNAs), the guardians of the germ-line stem cell genome - Biogenesis and Function -", New York, November 3, 2010
2. International Symposium on Control of Gene Expression and Cancer, dedicated to the 20<sup>th</sup> anniversary of the Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia, June 21-25, 2010
3. "Bingzhi Forum" speaker at Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing, China, June 15, 2010
4. Plenary Lecture, RNA Symposium 2010 (the 3<sup>rd</sup> RNA molecular Biology meeting of Taiwan), National Cheng Kung University, Tainan, Taiwan February 8-9, 2010
5. Genetics Seminar Program, Yale University School of Medicine, New Haven, January 12, 2010
6. RiboClub 2008 Opening Session Program 'Tiny RNAs - big players in the RNA world', Sherbrooke, Quebec, Canada 2008年9月22-24日

[図書](計 3 件)

代表図書: Saito, K., Miyoshi, K., Siomi, M.C., and Siomi, H. 2010. The key features of RNA silencing. pp1-28. In *RNA Technologies and Their Applications* (eds., V. Erdmann and J. Barciszewski) Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

[その他] 特になし