

平成25年度(基盤研究(S))研究概要(採択時)

【基盤研究(S)】

生物系(総合生物)



研究課題名 霊長類を含む哺乳動物の生殖エピゲノム形成機構

慶應義塾大学・医学部・教授

しおみ はるひこ
塩見 春彦

研究分野: ゲノム科学、RNA生物学、生化学、分子生物学

キーワード: 転移因子、エピゲノム、RNAサイレンシング、生殖細胞

【研究の背景・目的】

近年、20~30塩基長の小分子RNAが鍵となる遺伝子発現抑制機構が動植物で次々に明らかとなってきた。これら小分子RNAはArgonauteタンパク質と作動複合体(RNA induced silencing complex: RISC)を形成することで、この複合体を標的遺伝子にガイドする配列特異性決定因子として機能する。RISC複合体による遺伝子発現抑制機構を一般にRNAサイレンシングと呼ぶ。

分裂酵母ではArgonauteタンパク質とsiRNAを中核とする核内RISC複合体が特定クロマチン領域にヒストン修飾酵素を呼び込むことでヘテロクロマチン化が達成される。哺乳動物細胞においてもArgonauteはエピゲノム形成に関与するが、未だ、核内RISC複合体は同定されていない。生殖細胞特異的なArgonauteであるPiwiタンパク質は生殖細胞の発生/分化に必須の因子である。PiwiはpiRNAと複合体を形成し、転移因子の配列特異的なエピゲノム形成に関与する。この仕組みは種間で保存性が高いが、その分子機構は未だ不明である。

哺乳類核内Piwi-piRNA複合体(piRISC)の解析、霊長類特異的なPiwiの解析、そして人工的に生殖細胞エピゲノムを改変する技術の開発をとおして、**霊長類を含む哺乳動物の生殖エピゲノム形成機構**の解明を目指す。

【研究の方法】

モデル系としてマウス、コモンマーモセット、そしてヒト(組織と培養細胞)を用い、以下の3課題に重点的に取り組む。

1. **核内piRISC複合体の同定及びその機能解析**: 生殖細胞の細胞質にはpiRNAに結合した機能的なpiRISCの形成を感知する仕組みがあり、“カラ”(piRNA free)のPiwiが核に移行することを防いでいる。したがって、Piwiの核移行メカニズムの解明は、“機能的なpiRISC”の実体を明らかにすることでもある。機能的なpiRISCの形成を感知する仕組みと核内piRISCそのものの同定を行う。さらに、同様の実験をマーモセットやヒトの材料を用いて行い、マウスと霊長類のpiRISC機能の差異を明らかにする。
2. **霊長類特異的なpiRISCの解析とその標的遺伝子探索**: マウスには3種類のPiwiタンパク質が存在するが、霊長類では第4のPiwiが存在する。この第4のPiwiが形成する複合体の解析を行い、霊長類特異的な生殖細胞形成機構及び生殖エピゲノム形成機構

の解明をめざす。

3. **人工的に生殖細胞エピゲノムの改変を可能にする技術の開発**: piRNAを産生するゲノム領域にはしばしば100塩基長程度のhot spotが存在する。hot spotの上流にはpiRNAの産生を誘導するシス配列が存在する。その配列を含む領域を用いることでhot spotを任意の配列で置き換え、人工piRNAとして哺乳動物生殖細胞で発現させるシステムの構築を用い行う。

【期待される成果と意義】

ゲノムの転移因子領域が特異的にヒストンやDNAの修飾を受け抑制される機構はほとんど理解されていない。本研究はその特異性を決めているメカニズムの解明につながる。また、本研究は人工piRNA発現システムの構築につながり、生殖エピゲノムの人工改変を可能にする技術を生む。さらに、マウスではPiwi遺伝子変異は精子形成異常とそれに伴う不妊を引き起こす。霊長類Piwiの研究はヒト不妊症の発症分子機序の理解にも寄与する。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- "Biology of PIWI-interacting RNAs: new insights into biogenesis and function inside and outside of germlines" H. Ishizu, H. Siomi, & M.C. Siomi, *Genes Dev* **26**: 2361-2373 (2012)
- "How does the Royal family of Tudor rule the PIWI-interacting RNA pathway?" M.C. Siomi, T. Mannen, & H. Siomi, *Genes Dev* **24**: 636-646 (2010)
- "On the road to reading the RNA-interference code" H. Siomi, & M.C. Siomi, *Nature* **457**: 396-404 (2009)

【研究期間と研究経費】

平成25年度-29年度
167,800千円

【ホームページ等】

<http://www.siomilab.med.keio.ac.jp/>