

【目的】 Piwi はショウジョウバエ生殖細胞の維持継承に必須な蛋白質であり、piRNA と呼ばれる小分子 RNA と複合体を形成しレトロトランスポゾンの発現を転写レベルで抑制する。しかし、レトロトランスポゾンの脱抑制がなぜ生殖機能不全を引き起こすかは不明である。近年、我々は Piwi がレトロトランスポゾンのみならず周囲領域のクロマチン状態やレトロトランスポゾンがイントロン内に挿入された遺伝子の発現も抑制することを発見した (Mol. Cell 2016)。すなわち、Piwi-piRNA 複合体は蛋白質コード遺伝子の発現も抑制し得ると言える。そこで本研究は、Piwi の消失による生殖機能不全はレトロトランスポゾンというよりも蛋白質コード遺伝子の発現異常によって引き起こされるという仮説をたて、これを検証することとした。近年、レトロトランスポゾンのゲノム内配置が蛋白質コード遺伝子の発現を制御する「足場」となることが報告されており、本研究が新たな生殖細胞形成機構の解明とその関連因子の同定につながることを期待される。

【方法】 本研究は Piwi-piRNA 複合体がレトロトランスポゾンのみならず、タンパク質コード領域のエピゲノムを変化させ、これが生殖幹細胞の維持異常という表現型に直結しているという仮説をたてており、以下の 2 つのアプローチをとる。

1. Piwi-piRNA 複合体が制御する標的タンパク質遺伝子の同定

2. レトロトランスポゾンの抑制機構解明からのアプローチ

1. の解析では個々の標的遺伝子候補から実際に Piwi-piRNA 複合体によって制御される遺伝子を絞り込む。一方、2. の解析では、新たなレトロトランスポゾン抑制因子を同定し、その中でレトロトランスポゾンのみを制御する蛋白質がないか探索する。もしそのような蛋白質が得られれば、実際に蛋白質コード遺伝子の制御と生殖細胞形成の直接的接点の証明になると考える。

【結果】 1. 細胞外マトリックス結合蛋白質と予測される *ccn* 遺伝子が Piwi ノックダウン細胞で発現上昇することを見出した。2. 新規クロマチン制御因子として CG14438 遺伝子を見出した。CG14438 をノックダウンするとトランスポゾンの発現が上昇したが、piRNA 量に変動は認められなかった。CG14438 ノックダウン細胞では、転写レベルでレトロトランスポゾンの発現が減少していることを ChIP 解析で明らかにした。しかし、mRNA-seq 解析を行った結果、CG14438 はトランスポゾンのみならず、*ccn* も制御していたことから、当初目的としていたレトロトランスポゾン制御に特異的な因子ではないと結論づけた。

Ccn は細胞間相互作用に働く因子であり、生殖幹細胞とニッチの相互作用に機能する可能性が示唆されている。したがって、*ccn* 遺伝子を有力な Piwi の下流で働く蛋白質コード遺伝子の一つとして位置付け、その制御が実際に生殖細胞形成に必須であるかどうかを今後検討したい。

Piwi ノックダウン細胞における *ccn* 遺伝子の脱抑制

