

【目的】 真核生物ゲノムはトランスポソンの無秩序増殖の脅威から自己防衛しつつ、生存に必須な遺伝子群の発現を確保している。近年、この自己防衛に PIWI-interacting RNA (piRNA) と呼ばれる 20~30 塩基長の非コード小分子 RNA を中心とした RNA サイレンシングが主要な役割を果たすことが示唆された。piRNA は主にトランスポソンに由来し、PIWI タンパク質群と複合体を形成する。PIWI 遺伝子変異個体では、トランスポソンの発現が上昇し、生殖幹細胞発生異常が起り、不稔となる。以上のことから、PIWI-piRNA 複合体はトランスポソンを選択的に抑制することが示唆される。ショウジョウバエ PIWI タンパク質の一種である Piwi は核に局在し、piRNA と複合体を形成することにより、標的トランスポソンとその周辺ゲノム領域に抑制性ヒストン修飾を付加し、転写を制御する。これまでに、Piwi-piRNA 複合体による転写制御の実態は、リンカーヒストン H1 等複数の因子の誘導を伴うクロマチン構造の変動によることを明らかにした。さらに、この制御が PolIII の抑制を介した転写制御とヘテロクロマチン形成の二段階からなることを示した。これらのことから、piRNA は新たなエピゲノム因子として機能すると考えられる。本研究では、piRNA が標的トランスポソン領域のヘテロクロマチン形成に伴うゲノムワイドな影響の解明を目指す。

【方法】 ショウジョウバエ卵巣由来培養細胞 (Ovarian Somatic Cell : OSC) を用いて Piwi ノックダウン条件下において Hi-C 解析を行い、Piwi による制御が阻害された際のゲノムの三次元構造の変化を解析した。さらに、同条件下で Lamin DamID-seq 解析および Oligo-FISH 解析を行い、転写制御の際に観察される核内での位置関係を明らかにした。これらに加えて、ヒストン修飾などを ChIP-seq 解析、遺伝子発現量を RNA-seq 解析で網羅的に同定することで、piRNA の制御に伴うエピゲノム変化の全体像を明らかにした。

【結果】 Hi-C 解析の結果、Piwi ノックダウン条件下では、Piwi-piRNA に制御されるトランスポソンが挿入されているゲノム領域特異的に TAD 内相互作用頻度の減少と長距離間相互作用頻度の増加が確認された。さらに、Lamin DamID-seq 解析および Oligo-FISH 解析の結果、Piwi-piRNA 標的トランスポソンをコードするクロマチン領域について、Piwi ノックダウンに伴い核ラミナとの相互作用が減少することを明らかにした。これらの結果は、Piwi-piRNA によるトランスポソンの抑制は、局所的な転写抑制にとどまらず、標的トランスポソンを中心とした核内での空間的な配置やゲノム三次元構造の制御を伴うダイナミックな核内構造体形成であることを示唆する。

Piwi-piRNA は様々な階層でのエピゲノム制御を介してトランスポソンを抑制する

