

最先端・次世代研究開発支援プログラム
事後評価書

研究課題名	トランスポゾンと他の遺伝子を区別する仕組み ーゲノムにおける自己と非自己認識システムー
研究機関・部局・職名	慶應義塾大学・医学部・准教授
氏名	齋藤 都暁

【研究目的】

真核生物ゲノムは、利己的遺伝子の無秩序増殖の脅威から自己防衛しつつ、自己の生存に必須な遺伝子群の発現を確保するシステムを持っている。言い換えれば、自己（生存に必須な遺伝子群）と非自己（利己的遺伝子）を明確に区別する分子機構を備えている、と言える。これまでの解析から利己的遺伝子の発現抑制の分子機構としてヘテロクロマチン化や DNA メチル化などのエピジェネティックな発現制御機構が明らかになっている。しかし、如何にして利己的遺伝子が利己的遺伝子として識別され、どのような分子経路を経て発現抑制に至るかは不明である。ゲノム内の自己-非自己認識は発生初期に起こり、細胞分裂を繰り返しても維持される。これは、ショウジョウバエの Position Effect Variegation やマウスのヘテロクロマチンや DNA メチル化維持機構の研究によって明らかにされている。遺伝学的な解析から関連遺伝子が単離され、DNA メチル化酵素やヒストン修飾に関わる因子とともに Piwi 蛋白質群が同定された。2006 年、研究代表者を含む複数の研究グループが、Piwi 蛋白質群と結合する piRNA と名付けた約 25 塩基長の小分子 RNA 群を発見した。次世代型シーケンサーを用いた解析から、piRNA は利己的遺伝子の転写産物に由来し、膨大な種類数（現在報告されているもので数 10 万種類以上）が同定された。また、配列をゲノムにマッピングした結果、piRNA が大部分の利己的遺伝子領域をカバーすることが分かった。すなわち、piRNA は抑制を受ける全利己的遺伝子の断片化された配列情報である、と考えられる。Piwi 遺伝子群の変異体では、レトロトランスポゾンの発現が上昇し、生殖幹細胞の消失や発生異常が起こり不稔となる。piRNA を欠損する変異ハエ、変異マウスでは、各種レトロトランスポゾンの脱抑制が見られる。研究代表者は、以上の解析結果を考えあわせ、piRNA が利己的遺伝子認識のガイド分子として機能し、自己-非自己識別メカニズムのごく初期に機能するのではないか、という着想に至った。そこで本研究は、piRNA 及び Piwi 蛋白質群の分子機能解明を足がかりに、ゲノム内自己-非自己識別メカニズムを理解する。

【総合評価】	
○	特に優れた成果が得られている
	優れた成果が得られている
	一定の成果が得られている
	十分な成果が得られていない

【所見】
① 総合所見
<p>ゲノムにおける自己・非自己の識別機構を解明するために、piRNA と Piwi 蛋白質の分子機能解明を行った。その結果、これまで機能未知であったミトコンドリア局在型因子 Zucchini の構造学的解析、脂質代謝活性化解析などを行い、Zucchini が piRNA 前駆体をプロセスする dicer 活性を持つことを明らかにし、また、Piwi-piRNA 複合体と相互作用する蛋白 DmGTSF1 を発見し、ChIP-seq 解析から piRNA-Piwi によるトランスポゾンの抑制は転写レベルで起こること、さらに H3K9me3 のような抑制性ヒストンマークが必要であることを見出すなどの卓越した成果を上げた。研究計画は当初の計画に従って順調に進捗したと評価できる。国際一流誌に研究代表者を責任著者として論文が掲載されていることは高く評価できる。また、10 種類以上のトランスポゾン抑制に関与する因子が同定されており、そのうちの幾つかではマウスのホモログも単離されている。今後、これらの因子の機能解析を行うことで、トランスポゾン抑制の全貌が明らかにされると期待できる。</p>

② 目的の達成状況
<p>・所期の目的が <input type="checkbox"/>全て達成された ・ <input checked="" type="checkbox"/>一部達成された ・ <input type="checkbox"/>達成されなかった)</p>
<p>ゲノムにおける自己・非自己の識別機構を解明するために、piRNA と Piwi 蛋白質の分子機能解明を行った。その結果、1) これまでにキイロショウジョウバエの卵巣由来の培養細胞 (OSC) を用いて、13 種類のトランスポゾン制御因子を発見し、Yb body 局在型、ミトコンドリア局在型、細胞質局在型に分類することができた、2) これまで機能未知であったミトコンドリア局在型因子 Zucchini が piRNA 前駆体をプロセスする dicer 活性を持つことを明らかにした、3) Piwi-piRNA 複合体と相互作用する蛋白 DmGTSF1 を発見した。2) の Zucchini に関する成果は microRNA の生合成経路における Dicer の発見に匹敵すると評価されている。以上の成果に加え、他のトランスポゾン制御因子の機能同定も試行中であることから、研究の進捗状況は順調であると評価できる。</p> <p>トランスポゾンと他の遺伝子の転写の相違に関する研究では責任遺伝子を同定し、そのメカニズムを検討する必要がある、研究を継続している。</p> <p>Zucchini がいかんして piRNA 前駆体を特異的に認識するかは新たな課題であり、解析を継続中である。</p>

③ 研究の成果

・これまでの研究成果により判明した事実や開発した技術等に先進性・優位性が
(ある ・ ない)

・ブレークスルーと呼べるような特筆すべき研究成果が
(創出された ・ 創出されなかった)

・当初の目的の他に得られた成果が (ある ・ ない)

ミトコンドリア局在型因子 Zucchini が dicer 活性を持つことの発見は、ミトコンドリアと piRNA 生成との間に機能的相互作用があることを示唆している点、Piwi 蛋白質と piRNA と相互作用する蛋白質 DmGTSF1 を発見し、その蛋白質が転写レベルのトランスポゾン抑制に必須であることを証明した点に高い先進性があると思われる。

上記の Zucchini の RNA 切断酵素活性の発見とトランスポゾン抑制因子としての DmGTSF1 の発見は当該分野でかなり大きなブレークスルーと呼べる成果である。Zucchini の RNA 切断酵素活性の発見は microRNA の生合成経路における Dicer の発見に匹敵すると評価されている。新規トランスポゾン抑制因子 DmGTSF1 の発見も核内 Piwi-piRNA と相互作用する因子としてはじめての報告である。

上記の因子を含め 13 種類のトランスポゾン制御因子を発見し、その機能解析を試行中である点は、当初の目的の他に得られた成果と言えよう。これらのことより、トランスポゾンの制御機構の詳細が解明されると強く期待できる。

④ 研究成果の効果

・研究成果は、関連する研究分野への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

・社会的・経済的な課題の解決への波及効果が
(見込まれる ・ 見込まれない)

Zucchini が dicer 活性を有することが判明したことから、RNA 代謝とミトコンドリアとの関連が明らかになったこと、および Piwi-piRNA 複合体の機能に必須である DmGTSF1 の発見はエピゲノム研究の分野に大きな波及効果をもたらすと考えられる。トランスポゾン制御に関わるキイロショウジョウバエでの因子の同定とその機能が解明され、さらにそのマウスホモログも得られていることから、iPS 細胞の改良等に利用される可能性が出てきた。これらの成果は RNA 研究分野、オルガネラ（ミトコンドリア）研究分野、エピゲノム分野などへの波及効果が大きいと思われる。

社会的、経済的波及効果については現時点では明らかではない。しかし本研究は将来的には長いゲノム領域を対象とした piRNA によるエピゲノム改変技術の創製につながり、iPS 細胞を利用したオーダーメイド治療へ応用されるかもしれない。将来的には、生殖細胞のエピゲノム制御機構の特殊性とその意義の理解に有効となるかもしれない。

⑤ 研究実施マネジメントの状況

・適切なマネジメントが（行われた ・ 行われなかった）

適切なマネジメントが行われたと評価できる。キイロショウジョウバエに加えてマウスを研究材料にしたことにより、哺乳類のホモログの同定がなし得、研究の成果が哺乳類にまで波及することとなった。このことは、iPS細胞の品質改良等に直結し、再生医療等の分野で利用の道が拓くようになることが期待できる。

学術的評価の高い国際誌に論文が掲載され、もう1件が公表予定となっている。特に Genes & Development 誌に責任著者の一人として本研究の成果を発表したことは高く評価したい。今後は、研究代表者が研究室のPIとして単独でどの程度の成果をあげられるかが今後の課題となろう。

国民との科学・技術対話に関しては3件が実施された。体験活動として医学部実習室を利用して高校生に分子生物学的実験を指導するなど、ユニークな活動を行ったことは高く評価したい。