

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		哺乳類生殖細胞形成とエピジェネティック・リプログラミングにおける HSP90 の役割			
研究テーマ (欧文) AZ		Roles of HSP90 in germ cell development and epigenetic reprogramming of mammals.			
研究氏 代 表 名 者	カナナ CC	姓) イチヤナギ	名) トモコ	研究期間 B	2014 ~ 2016 年
	漢字 CB	一柳	朋子	報告年度 YR	2016 年
	ローマ字 CZ	Ichianagi	Tomoko	研究機関名	岡山大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		岡山大学大学院医師薬学総合研究科・助教			
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。) 本研究ではこれまでに <i>Hsp90α</i> 欠損(K0)マウスの胎生期精巣において生殖細胞特異的 Small RNA である piRNA の量が顕著に減少していることやPIWI 蛋白質の核移行に異常があることを見だし、レトロトランスポゾンの脱抑制がみられることを発表しました。しかしながら、どのようなメカニズムで HSP90α がこれらの現象に関与しているかはまだ明らかではないため、HSP90α 非存在下にて核移行に異常がみられる MIWI2 という蛋白質に着目することにしました。MIWI2 は胎生期の雄性生殖細胞にのみ一時的に発現します。そのため、<i>Hsp90α</i> WT 及び K0 の mouse embryonic fibroblast (MEF) を樹立し、<i>Miw2</i> を強制発現させることで細胞内局在の観察を試みました。しかしながら、MEF への遺伝子導入効率がなかなか上がらず、免疫染色で発現した分子を観察することは困難であったため、タモキシフェンの投与で <i>Hsp90α</i> の発現を欠損させることができるマウス(<i>Hsp90α</i> fl/fl)を用い、癌細胞株の樹立を試みました。<i>Hsp90α</i> fl/fl、<i>Hsp90α</i> wt/wt それぞれのマウスより樹立した癌細胞株について、タモキシフェン存在下で培養し、<i>Hsp90α</i> fl/fl 由来の細胞株でのみ HSP90α の発現が著しく低下することを確認しました。これらの細胞株を用いて <i>Miw2</i> の強制発現実験をし、MIWI2 蛋白質の細胞内局在に違いがあるかを検討する予定です。 また、<i>Hsp90α</i> WT と K0 マウスについて5週齢の精母細胞をソーティングによって精製し、mRNA シーケンスを行いました。現在データを解析中です。					
キーワード FA	HSP90		piRNA	発現解析	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

HSP90, found in all kingdoms of life, is a major chaperone protein regulating many client proteins. We demonstrated that HSP90α□one of two paralogs duplicated in vertebrates, plays an important role in the biogenesis of fetal PIWI-interacting RNAs (piRNA), which act against the transposon activities, in mouse male germ cells. The knockout mutation of *Hsp90α* resulted in a large reduction in the expression of primary and secondary piRNAs and mislocalization of MIWI2, a PIWI homolog. Whereas the mutation in *Fkbp6* encoding a co-chaperone reduced piRNAs of 28 to 32 nucleotides in length, the *Hsp90α* mutation reduced piRNAs of 24 to 32 nucleotides, suggesting the presence of both FKBP6-dependent and -independent actions of HSP90□. Although DNA methylation and mRNA levels of L1 retrotransposon were largely unchanged in the *Hsp90α* mutant testes, the L1-encoded protein was increased, suggesting the presence of post-transcriptional regulation. This study revealed that the specialized function of the HSP90α isoform in the piRNA biogenesis and repression of retrotransposons during the development of male germ cells in mammals.