

侵略者からゲノムを守る仕組みを解明

転移因子の抑制に Set1 は欠かせない

概要

京都大学大学院生命科学研究科 甲斐歳恵 教授（兼：大阪大学大学院生命機能研究科 教授）、大阪大学大学院生命機能研究科 井木太一郎 准教授（研究当時、現：京都大学生命科学研究科 特定准教授）、一色和奏 同博士課程学生（研究当時）らの研究グループは、次世代へ受け継がれる生殖細胞のゲノムをトランスポゾン（転移因子）と呼ばれる侵略者から守る分子機構を解明しました。ゲノムにはトランスポゾンが沢山挿入されており、それらの多くは生殖細胞と呼ばれる、種の維持に不可欠な細胞群で活性化します。トランスポゾンの活動が過剰になると、ゲノムは損傷を蓄積して頑健性を失い、生殖細胞は正常に配偶子（卵や精子）を形成できなくなります。種の維持の脅威であるが、ときには役立つトランスポゾンを、生殖細胞は PIWI タンパク質と PIWI と結合する piRNA に監視させ、上手に飼い慣らしています。piRNA 経路の解明を目指した本研究は、PIWI と相互作用する因子をショウジョウバエの卵巢にある生殖細胞で探索し、Set1 というヒストン修飾酵素を同定しました。piRNA はゲノムの特定の場所から産生されるのですが、Set1 が piRNA の産生源を確立していることが分かりました。本研究成果は、国際誌な総合科学誌「*EMBO Reports*」に8月26日に掲載されました。なお、本研究は評価され雑誌の表紙も飾ります。



トランスポゾン(侵略者)を狙い撃ちする piRNA の産生源を Set1 がゲノムに確立する。

井木太一郎、ChatGPT(GPT-5.5)

1. 背景

ゲノムには多かれ少なかれ**トランスポゾン(転移因子)**が含まれています。その名の通り、彼らはゲノムを自由に移動し増殖することができる危なっかしい配列です。ヒトではゲノムの約半分が現役のトランスポゾンや過去の転移の残骸だと言われています。長い歴史の中で、トランスポゾンの活動はゲノムの大規模な変革、新しい遺伝子や制御機構の付与など、生物の進化と多様化に貢献してきました。トランスポゾンは個体の営みを支えます。しかしながら同時に、トランスポゾンはゲノムの損傷や遺伝子の破壊のリスク要因であり、その過剰な活動は細胞の死や発生の異常に繋がります。

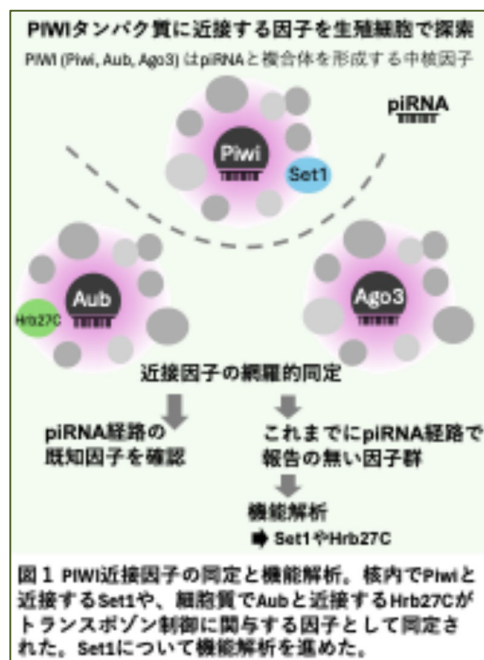
生殖細胞は配偶子（卵や精子）を形成し、次世代へゲノムを継承して種を紡ぐ大事な系列です。その生殖細胞において多くのトランスポゾンが活性化します。それゆえ、生殖細胞はトランスポゾンを監視して継承するゲノムを保護する機構を確立しています。動物の生殖細胞において監視を担う主要な因子は、PIWI タンパク質と **piRNA** と呼ばれる短鎖の非コード RNA です。両者は結合して複合体を形成し、その内部で piRNA はトランスポゾンを標的にする案内役を、PIWI タンパク質は標的を抑制する実行役を担います。しかしながら、どのようにして piRNA が発現するのかなど、PIWI と piRNA の経路はよく分かっていないことが山積みです。

2. 研究手法・成果

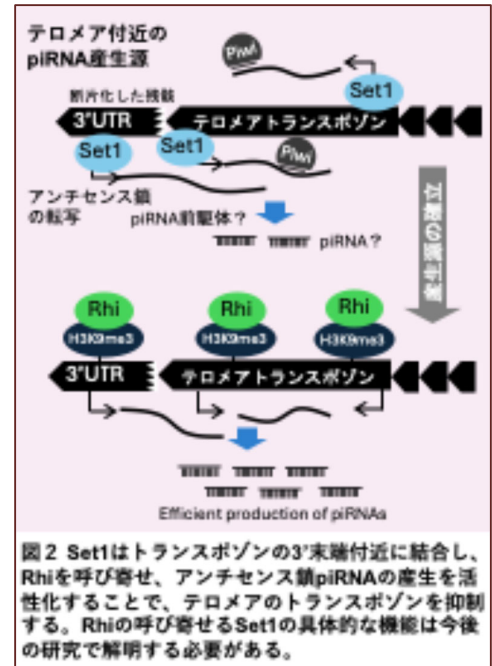
生殖細胞の中で、piRNA や PIWI タンパク質の近傍には他にどのような因子が存在するのか、それらはどのように piRNA の産生やトランスポゾンの抑制に関与するのか。これらの問いに答えて経路の理解を深めようと私たちは考えました。ショウジョウバエをモデルに用い、メスの生殖細胞で発現する 3 種類の PIWI タンパク質、すなわち Piwi, Aub, Ago3 について、それぞれの近傍に存在する因子を**近位依存性バイオチン標識法**という手法で網羅的に同定することに成功しました（**図 1**）。その結果、ヒトにも保存されている Set1 という因子が Piwi の近傍にすることが分かりました。生殖細胞において Set1 をノックダウンすると、piRNA の発現が減弱し、piRNA が抑えていたトランスポゾンが異常に活性化しました。Set1 が piRNA を介したトランスポゾンの抑制に重要な役割を担っていることを示唆します。

Set1 は**ヒストン H3** の 4 番目のリジン残基(H3K4)をトリメチル化するヒストンメチルトランスフェラーゼです。この H3K4me3 修飾は一般に転写の開始点付近に導入され、転写の開始を促します。piRNA 経路の因子(例えば PIWI タンパク質)をコードする遺伝子群も Set1 の制御下にあり、Set1 の機能を欠いた生殖細胞では発現が低下していました。この結果だけを見ると、Set1 は piRNA 経路を活性化させること自体に必要なのだから当たり前で、トランスポゾン抑制作用は間接的なものではないか、とも考えられます。しかしながら、Set1 が抑制するトランスポゾンは**テロメア**(染色体の末端)に局在するものなどに選択的で、それらは Piwi が抑制する対象と一致しますが、Aub の抑制対象とは一致しません(つまり Set1 を欠いた生殖細胞で piRNA 経路の全体が不活性化したとは考えにくい)。さらに、Set1 の酵素活性がトランスポゾンの抑制には必須でないことも判明しました。トランスポゾンを直接的に抑制する隠れた機能が Set1 にあるのではないかと考えるようになりました。

Set1 の隠れた機能とは何でしょうか。テロメアのトランスポゾンを標的にする piRNA はテロメアの付近か



ら産生されます。テロメアの付近にはトランスポゾンの残骸、断片化した3'末端側の配列が残されていました。CUT&Tag法を用いたゲノムワイドな解析により、Set1はトランスポゾンの3'末端付近へ結合することが分かりました(図2)。3'末端付近にはアンチセンス鎖の方向に転写を開始させる活性があることが、テロメアのトランスポゾンなどで報告されています。詳細の解明は今後の課題ですが、結合したSet1がアンチセンスの方向に転写を駆動し、その転写産物からトランスポゾンを標的にするpiRNAが産生されると考えています。ショウジョウバエの生殖細胞において、piRNA前駆体の転写はRhino(Rhi)という因子が指揮します。Set1を欠いた生殖細胞ではRhiがテロメアに局在しなくなりました。PiwiもRhiを制御することが報告されています。近接関係にあるSet1とPiwiが協調してテロメア付近にRhiを集め、piRNA前駆体の転写を活性化するモデルを提示しました。



3. 波及効果、今後の予定

1997年に酵母ではじめて同定されたSet1は、真核生物で広く保存された、転写を促進する因子であることが現在では分かっています。ところが、当時の文献はSet1をテロメアを抑制する因子として報告しています。酵素活性に依存しない機能や、アンチセンス鎖の転写を誘導するはたらきも散見されます。H3K4me3の導入、センス鎖の転写(mRNA前駆体の産生)の促進とは異なる機能も、酵母やショウジョウバエを超えて幅広い生物種で保存されているのかもしれませんが。本研究の成果は、ヒトのトランスポゾンやテロメアの制御機構に新たな視点を加え、関連する疾患の解決に光明を与える可能性を秘めています。

どのようにしてSet1はトランスポゾンの3'末端付近に結合するのでしょうか。なぜ3'末端への結合がpiRNAの産生やトランスポゾンの抑制に繋がるのでしょうか。研究を継続して現在のモデルを検証し、Set1のトランスポゾン抑制能を分子や構造のレベルで理解したいと考えます。Set1は巨大なタンパク質です。C末端側にはH3K4me3の導入を担うSETドメインを、N末端側にはRNAと結合しうるRRMドメインを保持しており、ドメイン間には非ドメイン領域が広がります。piRNA経路において、Set1のどこにどのような因子が相互作用するのでしょうか。ショウジョウバエの研究からヒトにも通じるコンセプトを導くことが今後も私たちの使命です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業(22K06081 26K01938 21H02401 21H05275)、日本学術振興会特別研究員奨励費(23KJ1521)、公益財団法人ライフサイエンス振興財団研究開発助成(J231503018)、公益財団法人武田科学振興財団ライフサイエンス研究助成(J241503007)、公益財団法人内藤記念科学振興財団研究助成(J241503011)、公益財団法人第一三共生命科学研究振興財団研究助成(J241503010)、大阪大学先導的学際研究機構(OTRI RNA-FS)の支援を受けて行われました。

<用語解説>

1. トランスポゾン

ゲノム上を転移する因子の総称。トウモロコシの粒の色の変異を研究していた Barbara McClintock により発見された。DNA 配列が切り出されて転移する DNA トランスポゾンと、転写された RNA の逆転写を介して転移するレトロトランスポゾンに大別される。自身が転移に必要な酵素をコードせず、他のトランスポゾンの酵素を利用して転移する非自立型のトランスポゾンも存在する。

2. 生殖細胞

有性生殖を行う生物において、種の維持に不可欠な細胞系列。メスでは卵巣、オスでは精巣において生殖細胞は維持される。生殖細胞は分化の過程で減数分裂を経て半数体の細胞となり、最終的に配偶子である卵や精子へと成熟する。卵や精子のゲノムは受精を介して次世代へと受け継がれる。

3. piRNA

PIWI-interacting RNA の略。その名の通り、Argonaute ファミリーの PIWI タンパク質群と結合して複合体を形成する。複合体は RNA-induced silencing complex (RISC) と呼ばれ、様々なサイレンシング現象を引き起こす。piRNA は相補的な配列と塩基対を形成してサイレンシングの標的を定める。因みに、PIWI をコードする遺伝子はショウジョウバエで最初に同定され、欠損変異体の表現型から *piwi* (*P-element-induced wimpy testis*) と命名された。Piwi の相同タンパク質群の総称が PIWI である。

4. 近位依存性ビオチン標識法

研究対象の因子（タンパク質など）の近傍に存在する因子群を同定する技術。本研究では、対象のタンパク質にビオチン化酵素を融合させ、融合タンパク質の近傍タンパク質のリジン残基をビオチン化させた。ビオチンで標識されたタンパク質は、ストレプトアビジン担体を用いて精製され、質量分析によって同定できる。

5. ヒストン

ゲノム DNA を巻き付けているタンパク質の総称。H2A、H2B、H3、H4 がそれぞれ 2 個ずつ集まって DNA 二本鎖を約 2 周巻き付け、ヌクレオソームという構造をつくる。ヒストンにはさまざまな化学修飾が加わり、その修飾によって周囲の DNA 上にある遺伝子の発現が促進されたり、抑制されたりする。

6. テロメア

ゲノム DNA を収納する染色体の末端構造。ヒトを含む多くの動物では、テロメラーゼという酵素がテロメア反復配列を付加することで、その長さを維持している。ショウジョウバエのテロメアは特殊で、テロメラーゼを使わず、トランスポゾン (*HeT-A*, *TAHRE*, *TART*) の転移を利用してテロメアを維持する。トランスポゾンが宿主に役立つひとつの例である。テロメラーゼに依存するテロメアにもトランスポゾンは存在し、酵母では Set1 に制御されている。

7. CUT&Tag 法

標的タンパク質の局在をゲノムワイドに解析する手法。細菌の Tn5 トランスポゾンに由来するトランスポゼースという酵素を利用する。まず、標的タンパク質に抗体を集合させた後、抗体に結合する Protein A/G と融

合した Tn5 トランスポゼースをリクルートする。酵素活性により、標的の結合部位の付近の配列にタグが挿入される。タグを利用してライブラリを作成し、ディープシーケンシングで解析すると、標的の局在が分かる。

<研究者のコメント>

研究を開始した当初は、PIWI を修飾する酵素の同定などを期待して PIWI 近傍の因子群を探索していました。ところが、期待通りに研究は進まないもので、私たちは Set1 と出会い、その解析を進めることになりました。つくづく人智は及びません。私は Set1 には目もくれないばかりか、piRNA 経路の既知因子である SetDB1 という似た名前の因子が同定されたのだと勘違いする始末でした。経験や知識で曇った眼に目薬をさしながら研究に取り組みます(井木太郎、特定准教授)。

<論文タイトルと著者>

タイトル：

PIWI proximity proteome reveals Set1-mediated piRNA biogenesis for transposon silencing at telomeres

(日本語訳) Set1 はテロメアで piRNA の産生とトランスポゾンの抑制を担う

著 者：Wakana Isshiki, Hiroko Kozuka-Hata, Masaaki Oyama, Toshie Kai, Taichiro Iki

掲 載 誌：EMBO Reports DOI：10.1038/s44319-026-00901-6