OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Induced DNA methylation and gene silencing by targeting MIWI2 to retrotransposon in spermatogenesis
Author(s)	北, 加奈子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52242
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

〔　題　　名　〕

Induced DNA methylation and gene silencing by targeting MIWI2 to retrotransposon in spermatogenesis.

(精子形成過程におけるMIWI2によるDNAメチル化を介したレトロトランスポゾン制御)

学位申請者　北　加奈子

The expression of long interspersed elements-1 (LINE1) and intracisternal A-particle (IAP) retrotransposons is regulated by *de novo* DNA methylation during spermatogenesis. The mouse PIWI family proteins, MILI and MIWI2, bind to piRNA (PIWI interacting RNA), corresponding to retrotransposon genes, and play roles in gene silencing in the embryonic testis. Unlike MILI, piRNA-associated MIWI2 localizes primarily to the nucleus. It is thought that the MIWI2/piRNA complex acts as an effector or guide for *de novo* DNA methylation in retrotransposon regulatory regions. To elucidate the function of MIWI2 in the nucleus, I created a fusion construct consisting of MIWI2 fused to a zinc finger (ZF) protein targeted towards the regulatory region of type A LINE1 elements and tagged with a nuclear localization signal (NLS). A transgenic (Tg) mouse was subsequently created, expressing the ZF-MIWI2 fusion protein, which bound directly to type A LINE1 target loci in the absence of piRNA. The Tg mice were crossed with MILI-deficient mice, which show a reduction in DNA methylation in the regulatory regions of retrotransposon genes and an up-regulation of the corresponding transcripts. In MILI-deficient Tg mice, the de-repression of retrotransposon genes was partially rescued in only the ZF-targeted type A LINE1 regions. Furthermore, the impaired spermatogenesis observed in the MILI-deficient mice was also partially rescued by crossing with the Tg mice. These data suggest that the induction of DNA methylation and the silencing of ZF target genes by ZF-MIWI2 are independent of the presence of piRNA, and that MIWI2 plays a key role in the recruitment of some proteins involved in the epigenetic repression of target loci in the nucleus.

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　北　加奈子　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主査　教授 副査　教授 副査　教授	仲野　徹　教授 濱田　博司　教授 平岡　泰　教授

論文審査の結果の要旨

マウスPIWIファミリーであるMILIとMIWI2は精子形成に必須のタンパクであり、piRNA（PIWI interacting RNA）の産生、レトロトランスポゾン転写制御領域の*de novo* DNAメチル化と、その発現抑制に関与していることが報告されている。そこで、MIWI2の*de novo* DNAメチル化における機能を明らかにするため、Line1（type A）の転写制御領域に結合するzinc finger（ZF）、核移行シグナル（NLS）およびMIWI2との融合タンパクZF-MIWI2を発現するTgマウスを作成し、MILI欠損マウスと交配し、種々の解析をおこなった。その結果、このマウスでは、MILI欠損マウスにおいて認められるレトロトランスポゾンのDNAメチル化異常が、Line1（typeA）特異的にある程度改善し、発現が抑制された。更に、一部の生殖細胞で精子形成の進行が認められた。これらの結果から、MIWI2は核内においてエピジェネティックな遺伝子発現抑制にタンパクをリクルートし得ることが示唆された。この研究成果は、学位を授与するに値すると考えられる。