

非コードRNAによる転写抑制

岩崎 由香

転写制御といえば転写因子がエンハンサーやプロモーターなどの遺伝子発現制御配列を認識して行われるもの、と思われがちであるが、実はRNAもそこに関わっている。実際、RNAが相補的な塩基配列とハイブリダイゼーションする反応はきわめて効率がよく、しかも特異性が高い。この仕組みを巧妙に使っているのが、piRNAによるレトロトランスポソンの遺伝子サイレンシングと、酵母でみられるヘテロクロマチン形成である。また、RNAは非常に柔軟な性質を持っており、巨大なタンパク質が集合して複合体を創るための足場として働くことができる。このメカニズムで働いている非コードRNAの代表例がX染色体の遺伝子量補正に関わる哺乳類の*XIST*、ならびにショウジョウバエの*roX*である。本稿では、配列の相補性を介して標的を見つけるためのガイドとして働く小さなRNAを主軸に、非コードRNAによる転写制御機構を紹介する。

1. はじめに

非コードRNAは、その効率的かつ特異的なハイブリダイゼーション効率やタンパク質との柔軟な構造体形成能をもって転写制御に関与している。小分子RNAは20~30塩基長程度の小さなRNAであり、多様な標的配列を配列相補性により認識するガイドとして働き、転写および転写後制御を行うことが知られている（図1A）。その一方で、200塩基以上の長さを持つ長鎖非コードRNA（lncRNA）はタンパク質と複合体を形成し、構造体の骨格のように働くことで、転写制御等の機能を持つ（図1B）。これらの特徴的な機能は、RNAがタンパク質に翻訳されず、非コードRNAとして機能することで初めてもたらされる。

RNAサイレンシングを引き起こす小分子RNAのなかでもPIWI-interacting RNA（piRNA）は、生殖組織特異的に発現し、主にトランスポソンを抑制することでゲノムの安

定性を保持している¹⁻³。piRNAの機能不全は、トランスポソンの脱抑制をもたらし、これがDNA損傷、生殖組織の発生不全、不妊などの表現型につながる⁴。piRNAは転写または転写後レベルで標的遺伝子を抑制することが知られているが、piRNAを介したサイレンシングがどのレベルで起こるかは、piRNA-induced silencing complex（piRISC）を形成するPIWIタンパク質に依存する（図1A）。ショウジョウバエAubとAGO3、マウスMiwi（Pwif1）とMili（Pwif2）など、細胞質に局在するpiRISCはsmall interfering RNA（siRNA）と同様に標的トランスポソンのRNAを切断・分解することで発現抑制を行う。一方、ショウジョウバエのPiwiやマウスのMiwi2（Pwif4）は、核内piRISCを形成し、piRNAを介して標的遺伝子の新生RNAと結合することで、転写を抑制する。これらのPIWIタンパク質は核局在シグナルを持つが、RNAを切断するスライサー活性は持たない⁵⁻⁸。そのため、これらのpiRISCは核内に移行し、新生RNAを切断することなく安定的に結合することで、ヒストン修飾酵素、DNAメチル化酵素などのさまざまな因子を呼び込む。これにより、標的遺伝子座のエピジェネティックな変化を誘導し、ヘテロクロマチン形成を介して転写を抑制する。興味深いことに、核内PIWIタンパク質を介したトランスポソンサイレンシングの全体的な枠組みは、分裂酵母におけるsiRNAを介したヘテロクロマチン形成と染色体凝縮に類似している。本稿では、小分子RNAを介した転写抑制機構として、ショウジョウバエおよびマウスにおけるpiRISCを介した転写抑制メカニ

理化学研究所生命医科学研究センター（〒230-0045 神奈川県横浜市鶴見区末広町1-7-22）

Transcriptional repression by non-coding RNA

Yuka W. Iwasaki (RIKEN Center for Integrative Medical Sciences, 1-7-22 Suehiro-cho, Tsurumi-ku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan)

本論文の図版はモノクロ（冊子版）およびカラー（電子版）で掲載。

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2024.960813

© 2024 公益社団法人日本生化学会

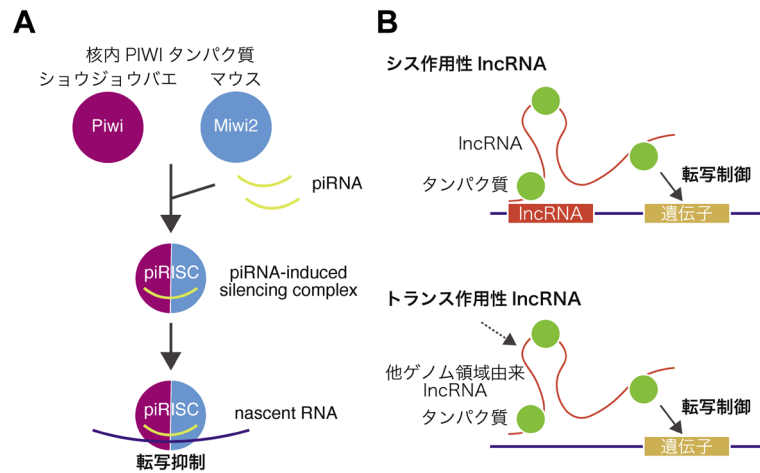


図1 非コードRNAによる転写抑制

(A) piRNAを介した転写制御と(B) lncRNAを介した転写制御の簡易モデル。ショウジョウバエ Piwiおよびマウス Miwi2と複合体を形成する piRNAが転写抑制を引き起こす。lncRNAによる転写制御機構は lncRNAの種類に多様である。ここでは特定の lncRNAではなく、一般的なシス作用性およびトランス作用性 lncRNAの制御を示している。

ム、ならびに分裂酵母における Ago1/siRNA を介したヘテロクロマチン形成について概説する。

lncRNAの性質は個々でより大きく異なり、機能様式も多岐にわたる(図1B)。たとえば lncRNAは、転写部位に近接するクロマチンと直接的または間接的に相互作用することで、クロマチン状態を不活化することができる。*ANRASSF1*がシスで形成するRループは、ポリコムタンパク質 PRC2を誘導し、遺伝子発現を制御する⁹⁾。その他にも、転写抑制状態にあるプロモーターに結合する転写因子やRNAポリメラーゼ(Pol II)をリクルートする *Arin*¹⁰⁾、ヒストン修飾を誘導する *GNG12-ASI*¹¹⁾、クロマチンアクセシビリティを低下させる *SRGI*¹²⁾ および *Chaserr*¹³⁾ など、転写機構と相互作用することで遺伝子発現を抑制する lncRNAも報告されている。これらは一貫して転写を負に制御する。その一方で、lncRNAの中には、エストロゲン受容体をコードする *ESR1* 遺伝子の転写を活性化する *ELEANORS*¹⁴⁾ のように、自身の転写が核内構造体の形成を制御して遺伝子発現を促進するものもある。さらに、エンハンサーと協調して働く enhancer-associated long noncoding RNA (elncRNA) も報告されている。elncRNAのスプライシングは、関連するエンハンサーの活性と正の相関があり、隣接するタンパク質コード遺伝子の発現を促進すると考えられているが、詳細は明らかになっていない^{15, 16)}。本稿では、lncRNAを介した転写制御研究の先鞭となった X染色体遺伝子量補正を行う lncRNA、哺乳類 *XIST* とショウジョウバエ *roX* に焦点をあてて紹介する。他の lncRNA の転写制御機能については、総説論文等を参照されたい^{17, 18)}。

2. 小分子非コードRNAによる転写制御

piRNAは、トランスポゾンが内包されているゲノム中の「piRNAクラスター領域」から転写された長鎖RNA(この

piRNA前駆体も lncRNA の一種といえる) やトランスポゾン自身からプロセッシングされる小分子 RNA である¹⁻³⁾。Piwi や Miwi2 は、細胞質で生成された成熟型 piRNA と複合体を形成し、核内で標的トランスポゾンの新生 RNA に結合することで、抑制性ヒストン修飾であるヒストン H3 の 9 番目のリシン残基に対するトリメチル化修飾 (H3K9me3) の付与や DNA のメチル化を介して転写を抑制する。piRNA クラスターの発現様式や piRISC の生合成についても近年さまざまな知見が蓄積されているが、ここでは piRISC による転写抑制機構を中心に概説する。また、生合成が転写制御と協調して起こる分裂酵母 siRNA に関しても、piRNA による制御と比較しながら紹介する。

1) ショウジョウバエ piRNA による転写サイレンシング

転写抑制複合体を新生 RNA 上に形成する piRISC は、まず標的 RNA に結合した直後に転写速度を低減されることで、安定的な足場を形成する。このプロセスに、Maelstrom (Mael) が寄与していることが示された¹⁹⁾。Mael は以前からトランスポゾンのサイレンシングに不可欠であることが示されていたものの^{7, 20, 21)}、Mael 欠損条件下で piRNA を介した制御の際に付与される H3K9me3 の量にほとんど影響がないことから、Mael がどのように piRNA の転写抑制に関与しているかは不明であった⁷⁾。しかしながら、近年の培養細胞系を用いた解析により、Mael は核内の Piwi と複合体を形成し、この複合体はさらにクロマチンリモデラー SWI/SNF 複合体のコアユニットである Brahma (Brm) に結合することが示された¹⁹⁾。SWI/SNF はプロモーター領域周辺のクロマチン構造を弛緩させ、Pol II を介した転写を促進することが知られている²²⁾。このことから、Piwi は Mael とともに標的トランスポゾン周辺の SWI/SNF 複合体を阻害することで、転写速度を負に制御し、サイレンシング複合体形成のための足場を確立するというモデルが提唱された(図2A)。

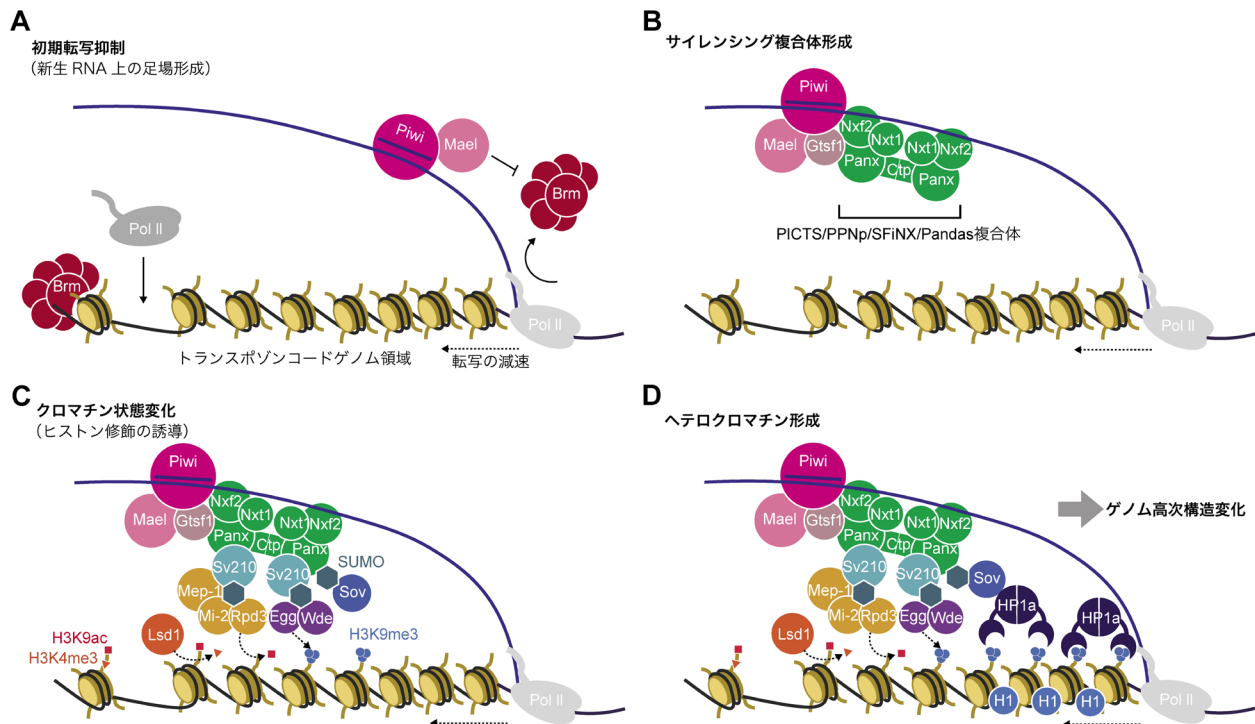


図2 ショウジョウバエ piRNA による転写サイレンシング
 ショウジョウバエ piRNA は、(A)初期転写抑制を介したトランスポゾン新生RNA上の足場形成、(B)新生RNA上に形成された足場での転写サイレンシング複合体の形成、(C)piRNA 標的クロマチン領域のヒストン修飾状態の変化、(D)ヘテロクロマチン形成、といったステップを経て転写の制御を行う。

トランスポゾンの新生RNAに足場を形成した piRISC は、次にサイレンシング複合体を呼び込むことで転写制御を開始する。サイレンシング複合体である、PICTS/PPNp/SFiNX/Pandas は、Piwi と相互作用する Panoramix/Silencio (Panx), Nxf2, Nxt1 からなる²³⁻²⁶。λN-BoxB システムを用いて人工的に任意のタンパク質をレポーターに係留する実験系により、Panx をレポーター RNA に係留すると、H3K-9me3 の蓄積とレポーターの転写制御が観察された^{27, 28}。さらにこの制御は、Piwi 非存在下でも確認されたことから、Panx が Piwi の下流で遺伝子サイレンシングを誘導することが示された。また、RNA 核外輸送タンパク質ファミリーの一員である Nxf2 は、幅広い mRNA の核外輸送因子として知られている Nxf1 とは異なり、核外輸送能を持たない^{23, 26}。その一方で RNA 結合ドメインは機能的であり、piRNA の標的トランスポゾンの新生 RNA と piRISC を安定的に結合させていることが示された^{25, 26}。Nxt1/p15 はもともと Nxf1 の補因子として報告されていたが²⁹、これが Nxf2 との相互作用を介して piRNA の転写抑制にも必須である。さらにこれら複合体構成タンパク質は、相互作用を通して互いを安定化させている²³⁻²⁶ (図2B)。

近年、PICTS/PPNp/SFiNX/Pandas 複合体の新たな相互作用因子として、Cutup/LC8 (Ctp) が同定された^{30, 31}。Ctp はユビキタスに発現し、二量体を形成することで安定な複合体を形成する³²。Piwi-piRNA 経路においても、Ctp を介して PICTS/PPNp/SFiNX/Pandas 複合体が重合体を形成している。Gametocyte-specific factor/Asterix (Gtsf1) もまた、

Piwi と相互作用する核タンパク質である³³⁻³⁵。詳細な作用機序は不明だが、Gtsf1 欠損培養細胞では、Piwi 標的トランスポゾンの H3K9me3 修飾は低下し、転写の脱抑制が起こる。さらに、Gtsf1 は piRISC および PICTS/PPNp/SFiNX/Pandas 複合体と相互作用していることから、piRISC の転写抑制ステップに必須であると考えられる¹⁹ (図2B)。

続いてサイレンシング複合体は、転写を抑制するための酵素群をリクルートする。ショウジョウバエでは三つの H3K9 特異的ヒストンメチル化酵素、Su(var)3-9, G9a, Eggless/SetDB1 (Egg) が知られているが、これらのうち Piwi を介した転写サイレンシングで機能するのは Egg である²⁷。Egg は Ubc2 によってユビキチン化されることでメチル化活性を示し、さらに補因子である Wendei (Wde) が結合することでクロマチン上に安定的に結合する³⁶。また、H3K4 脱メチル化酵素 Lsd1 が活性型ヒストン修飾である H3K4 のメチル化の除去に寄与する²⁸。piRNA 標的トランスポゾン領域は、Egg によるメチル化を受ける前に脱アセチル化される。この脱アセチル化に関与しているのが、Mi-2, Mep-1, Rpd3 の複合体である³⁷。ATP 依存性のクロマチンリモデラーである Mi-2 および Rpd3 は、ショウジョウバエの NuRD 複合体の一員である³⁸。Mi-2 については、ショウジョウバエ Mec 複合体にも含まれる一方で、Rpd3 は含まれない³⁹。したがって、ここで形成される Mi-2, Mep-1, Rpd3 を含む複合体は、Piwi-piRNA を介した転写抑制経路に特有のものであると考えられる³⁷。さらに、E3 リガーゼである Su(var)2-10 (Sv210) による、Egg, Wde,

Mi-2, Mep-1のSUMO化がサイレンシング複合体との相互作用に重要な役割を果たす可能性が示唆されている^{37,40}。Sv210を強制的にレポーターに係留した際に転写抑制を引き起こすためには、Wde-EggとSv210によるSUMO化活性の両方が必須であった⁴⁰。このことから、Sv210は自身を含む近接タンパク質をSUMO化し、Egg, Wde, Mi-2, Mep-1をリクルートするための足場を提供している可能性が考えられる。近年、PanxもSUMO化を介してzinc finger proteinであるSmall ovary (Sov)をリクルートし、ヘテロクロマチン形成を誘導することが報告された⁴¹。多くのpiRNA経路関連因子がSUMO相互作用モチーフを持つことから、SUMO化が転写制御複合体形成の鍵となっていると考えられ、今後のさらなる解析がもたれる(図2C)。

上記のとおり抑制性ヒストン修飾が付与されたpiRNA標的トランスポゾン領域に対して、ヘテロクロマチンタンパク質1a (HP1a)が結合することでヘテロクロマチンが維持される⁴²⁻⁴⁴。また、リンカーヒストンであるヒストンH1は、Piwiを介してトランスポゾン領域に安定的に結合し、piRNA標的トランスポゾン領域のクロマチンアクセシビリティを低下させる⁴⁵。さらに、ラミン相互作用領域の網羅的解析法であるLamin DamID解析を用いた結果から、piRISCによる制御が標的トランスポゾンコードゲノム領域を核膜付近に係留すること、およびゲノム高次構造の網羅的解析法であるHiC解析から近隣ゲノム領域間の相互作用を増強することで、安定的なヘテロクロマチン構造が維持されていることが明らかとなった⁴⁶。以上のように、ショウジョウバエでは、さまざまな因子とともにPIWI-piRNAが段階的かつ綿密なトランスポゾン抑制ステップを踏んで転写の抑制状態を維持していることが明らかになっている(図2D)。

2) マウスpiRNAによる転写サイレンシング

ショウジョウバエのPiwiは卵巣と精巣の両方で機能するのに対して、マウスのPiwiホモログであるMiwi2 (Piwi14)の機能は精巣特異的である⁴⁷。マウスのほかのPIWIタンパク質であるMiwi (Piwi1)とMili (Piwi2)もほぼ精巣特異的に発現するが、ショウジョウバエのAubとAGO3と同様に細胞質で転写産物を切断・分解することでトランスポゾンの発現を抑制する^{5,48-51}。実際に、各マウスPIWIタンパク質について、スライサー活性の必要性を検討した結果、Miliのスライサー活性変異マウスでは、胎生期の精巣におけるトランスポゾン由来のpiRNAの増幅が行われておらず、Mili欠損と同様に精子形成不全による不妊を引き起こした。その一方で、同じ胎生期の精巣に発現するMiwi2のスライサー活性変異マウスでは正常にpiRNAが増幅し、精子形成が行われていた。このことから、Miwi2によるサイレンシングはRNAの分解を介したものではなく、ショウジョウバエPiwiと同様にエピジェネティックな転写抑制機構であるといえる⁵。すべてのマウスPIWIタンパク質は精子形成に必要なだが、精子形

成中の発現時期は異なる。Miwiはパキテン期から円形精子細胞まで発現し^{49,51}、Miwi2は精原幹細胞(SSCs)の前駆細胞に特異的であり⁴⁷、Miliはこれらの細胞すべてで発現する^{48,50,51}。

哺乳類の生殖サイクルでは、受精卵と始原生殖細胞(PGC)の2回にわたり初期化(リプログラミング)が起こり、エピジェネティック修飾が消去される^{52,53}。生殖細胞では、このリプログラミングの後、精子形成を適切に進めるために、ゲノム全体で*de novo* DNAメチル化が起こる^{41,54-58}。*de novo* DNAメチル化が起こる雄性生殖細胞はゴノサイトと呼ばれ、MiliとMiwi2を発現している。Mili-piRISCが細胞質で標的RNAを切断し、その切断産物がpiRNAとしてMiwi2に結合する⁵。その後、Miwi2-piRISCは、DNAメチル化と抑制性ヒストン修飾を介してトランスポゾンの転写を抑制する^{47,59}。マウスは四つのDnmt3メンバー、Dnmt3A, Dnmt3B, Dnmt3L, Dnmt3Cを発現しており、これらすべてが正常な精子形成に必要である⁶⁰⁻⁶⁵。これらのうち、齧歯類特異的なDnmt3Cは生殖細胞特異的に発現していることが知られており、その枯渇はトランスポゾンプロモーター領域のDNA脱メチル化を特異的に引き起こす⁶⁰。このことから、Dnmt3CがマウスPIWI-piRNA経路でDNAメチル化を引き起こしていると考えられる(図3A)。

Miwi2は、ゴノサイト期に複数の因子と相互作用することが報告されており、TDRD9もその一員である^{66,67}。TDRD9はTudorドメインを含むDEXH-boxヘリカーゼ/ATPaseで、胚と成体の両方の精巣で発現している。*tdrd9*変異個体では、トランスポゾンのDNAメチル化に異常が確認された一方で、piRNAの産生量には影響がみられなかった。このことから、TDRD9は特にトランスポゾンの転写抑制の際に重要な機能を持つことが予想されるが、詳細なメカニズムに関しては明らかになっていない。さらに近年、Miwi2の新たな相互作用因子として、SPOCD1とTEX15が同定された⁶⁸⁻⁷⁰。SPOCD1は、TFIISとSPOCドメインを持ち、TEX15はDUF3715と二つのTEX15ドメインを持つ。SPOCD1およびTEX15の欠損個体では減数分裂が早期に停止し、完全な不妊となる。この変異体ではトランスポゾン上のDNAメチル化レベルが低下し、トランスポゾンの発現が脱抑制される。SPOCD1と相互作用する因子には、NuRD複合体とBAF複合体の構成要素が含まれるが、これらの複合体がpiRNAを介した転写制御でどのような機能的役割を果たすかについては未解明である⁷⁰。さらにSPOCD1は、C19ORF84との相互作用を介してDnmt3Cをリクルートすることが示された⁷¹。このことから、SPOCD1が誘導するDnmt3Cの作用により、Miwi2-piRNAはトランスポゾン領域にDNAメチル化を付与するというモデルが考えられる。加えて、C19ORF84のヒトホモログにおける変異がヒトの不妊症患者で確認されたことから、このトランスポゾン抑制機構がヒトでも保存され、かつ重要な生理的意義を持つ可能性が示唆された⁷¹(図3A)。

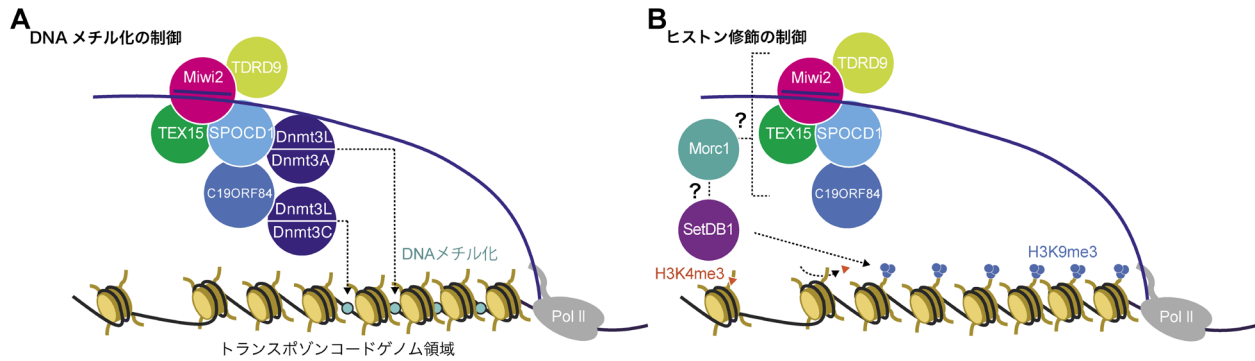


図3 マウス piRNA による転写サイレンシング

マウス piRNA は、(A)抑制性ヒストン修飾と(B)DNA メチル化の付与を経て標的トランスポゾンの転写抑制に至ることが知られているが、これらの制御の関係性を含め、いまだ解明されていない部分も大きい。

Morc1 は Morc ファミリーに属し、その枯渇は雄性不妊の原因となることが古くから知られていた^{72, 73}。Morc1 は胚盤胞や生殖細胞で高発現している一方で、分化した細胞では発現しておらず、*morc1* 変異マウスでは、トランスポゾンの低メチル化と発現上昇が観察されるが、piRNA の産生量には影響しない⁷⁴。その一方で、Morc1 の影響を受けるゲノム領域が piRNA 標的トランスポゾン領域に限られないことから、piRNA 経路における機能については不明であった。近年、ゴノサイトの解析を通して、Morc1 が生殖細胞における Miwi2 標的トランスポゾンに H3K9me3 修飾を付与する上で重要な役割を果たしていることが示唆された⁷⁵。その一方で、Morc1 と Miwi2 や SetDB1 との相互作用は観察されていないことから、どのように Morc1 が Miwi 標的トランスポゾン領域を認識するかについては、今後の課題となっている (図3B)。

マウス PIWI-piRNA 経路においては、DNA のメチル化が起こらないショウジョウバエと異なり、*de novo* DNA メチル化を介した制御と抑制性ヒストン修飾が協調して機能していると考えられる。精子形成と卵形成の初期発生段階では、*de novo* DNA メチル化の前に、SetDB1 がトランスポゾン遺伝子座の H3K9 をメチル化することが、その後の適切な DNA メチル化に重要であるといわれている⁷⁶。また、PIWI-piRNA 関連因子の変異個体について、脱抑制は起こるものの DNA メチル化状態に大きな変動がない種類のトランスポゾンも観察されている^{70, 71}。このことから、トランスポゾンの種類によって、転写抑制の際の DNA メチル化とヒストン修飾の依存度合が異なる可能性もある。DNA メチル化の制御と抑制性ヒストン修飾の付与が PIWI-piRNA 制御で互いにどのような関連性にあるかについては、今後明らかになっていくことが期待される (図3)。

3) 分裂酵母小分子 RNA によるヘテロクロマチン形成

ショウジョウバエやマウスの核内で PIWI-piRNA 経路がトランスポゾンの転写を抑制するメカニズムに加え、分裂酵母では Ago1 と siRNA の複合体を介した構成的ヘテロクロマチン形成がセントロメア周辺領域やサブテロメア領域で起こる。それぞれの遺伝子座にはリピート配列があり、

この領域から siRNA が産生され、複数の相互作用因子と協調して染色体凝縮を引き起こす⁷⁷⁻⁷⁹。さらにこの染色体凝縮は隣接領域にも広がり、遺伝子座を完全に覆うようになる^{80, 81}。この siRNA 依存的な構成的ヘテロクロマチン形成は、組換えや細胞分裂時の染色体分配など、染色体の正常な機能に重要な役割を果たす⁸²。

リピート配列は構成的ヘテロクロマチン領域内に存在するが、siRNA は RNA を鋳型として産生されるため、転写されることが必須となる⁸³。転写された新生一本鎖 RNA は、RNA-directed RNA polymerase complex (RDRC) の一員である Rdp1 によって二本鎖 RNA (dsRNA) に逆転写される^{80, 84}。RDRC には Rdp1 のほかに、ヘリカーゼである Hrr1 と、ポリ(A)ポリメラーゼファミリーメンバーである Cid12 が含まれる⁸⁰。dsRNA は、ヒト Dicer の分裂酵母オルソログである Dcr1 によって、21塩基の二本鎖 siRNA にプロセシングされる^{85, 86}。二本鎖の siRNA は Ago1 と複合体を形成し、siRNA として働かない方の鎖は Ago1 のスライサー活性によって切断され分解される⁸⁷。Ago1 と siRNA はさらに Chp1 と Tas3 とともに RNA-induced transcriptional silencing (RITS) 複合体を形成し、サイレンシングのプラットフォームとして機能する^{78, 88}。

RITS 複合体は標的のリピート新生 RNA を認識し、Clr4 メチル化酵素複合体 (CLRC) をリクルートする⁸⁹⁻⁹¹。Clr4 は、哺乳類の Suv39h やショウジョウバエの Su(var)3-9 のホモログの H3K9 メチル化酵素である⁹²⁻⁹⁴。CLRC は H3K-9me3 を付与し、これに RITS 複体内の Chp1 がクロモドメインを介して結合し、RITS のヘテロクロマチンへの結合を安定化することで転写を抑制する^{81, 95-97}。

分裂酵母の RITS が引き起こすサイレンシングと、piRISC が引き起こす転写サイレンシングは同様にヘテロクロマチン形成を介するなど、多くの共通点がみられる。その一方で、分裂酵母では、siRNA は自身の前駆体が産生される遺伝子座を標的とすることで、シスにヘテロクロマチン形成を誘導する。それに対して PIWI-piRNA は piRNA クラスターから産生され、配列的な相補性をもって標的をトランスに認識し転写抑制するといった違いもみられる。分裂酵母の siRNA は構成的ヘテロクロマチン領域を安定

的に維持しているのに対して、piRNAはホストにとって有害な転写活性を持つトランスポゾンの抑制に機能する、といったサイレンシング機構が果たす役割の違いもある。ゲノム中に散在するトランスポゾンを効率的に抑制するためには、トランスに作用できることが効率的であることも想像できる。

3. 長鎖非コードRNAによる転写制御

現在ではさまざまなlncRNAがエピジェネティックな機構を介して転写抑制に関与することが知られているが、その先鞭となったのが遺伝子量補償を制御するlncRNAである。遺伝子量補償とは、生物が両性における遺伝子発現を均等に保つメカニズムである。ここでは、哺乳類*XIST*ならびにショウジョウバエ*roX*による染色体レベルの転写調節について概説する。

1) 哺乳類*XIST*によるX染色体遺伝子量補正

哺乳類雌で機能するlncRNAの*XIST*は、X染色体の不活性化を担っている。胚発生の過程で、*XIST*分子は2本のX染色体の一方に広がり、その遺伝子の大部分をサイレンシングする⁹⁸⁾。*XIST*は、X染色体以外の染色体から異所的に発現させた場合でも、*XIST*を発現した染色体領域をサイレンシングすることができる⁹⁹⁾。このことから、*XIST*の発現自体が制御対象となっている染色体領域を決定していると考えられる。サイレンシングを引き起こしているのは、*XIST*がリクルートするさまざまなタンパク質である¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾。*XIST*は転写抑制因子として知られるSPENやポリコム複合体など種々のエピジェネティック制御因子を制御対象X染色体に呼び込み、抑制性ヒストン修飾の付与を介して遺伝子発現を抑制すると考えられているが、この抑制複合体については未解明の部分も大きい。さらに、マウス胚性幹細胞を用いた研究から、*XIST*がX染色体を迅速に覆うために、ゲノムの三次元構造を利用していることが示唆されている。これにより、*XIST*は空間的に近接したゲノム領域から異なる遺伝子座へと拡散し、抑制性ヒストン

修飾を誘導する因子との相互作用を通して標的のゲノム領域を抑制する¹⁰⁴⁾。*XIST*による転写抑制は、一度開始されると*XIST*が存在しない場合でも持続することが示されていることから¹⁰⁰⁻¹⁰³⁾、*XIST*はエピゲノム状態制御のイニシエーターとしての役割を果たしているといえる(図4A)。

2) ショウジョウバエ*roX*によるX染色体遺伝子量補正

ショウジョウバエの性決定も哺乳類と同様に、XXが雌、XYが雄であることが知られているが、哺乳類とは異なり雄のX染色体からの転写量を倍に増幅することで、雌雄間の染色体数に起因する発現量の差を補っている¹⁰⁵⁻¹⁰⁷⁾。ショウジョウバエでは、二つの*roX* lncRNAである*roX1*と*roX2*が五つのMSL (male-specific lethal) タンパク質 (MLE, MSL1/2/3, MFO) とともにMSL複合体を形成する^{108, 109)}。この複合体が、活性型ヒストン修飾であるH4K16acを付与することによって、単一の雄X染色体上の遺伝子発現を促進し、雌における二つのX染色体由来の発現量とのバランスを保つ。MSL1はRNAと結合するMSL3を含むほかのタンパク質と相互作用し、MSL1/2はX染色体上の高親和性部位として知られる結合部位を認識する¹¹⁰⁾。さらに、MOFはH4K16acを誘導し、活性型ヒストン修飾を広げる¹⁰⁸⁾。*roX1*が欠損するとX染色体遺伝子の発現が減少し、*roX2*が欠損するとMSLに依存しない遺伝子発現が起こる¹¹¹⁾。このように*roX1*と*roX2*がそれぞれ独立して機能している点も興味深い(図4B)。

哺乳類では*XIST*が主にX染色体のシスに広がって機能するが、ショウジョウバエの*roX1/2*はトランスで機能するというユニークな特徴を持っており¹¹²⁾、また*XIST*は抑制に働く一方で*roX*は活性化に働くという点でも異なる。これは、遺伝子量補償といった共通の現象の制御を担うlncRNAの機能的多様性を示している。また、X染色体全体といった広範囲の制御には、長鎖RNAの分子量がタンパク質と比較して大きいという性質が適しているとも考えられる。lncRNAの作用機構は多岐にわたることから、今後もユニークかつ生体に必要不可欠な機能が発見される可能性にも期待したい。

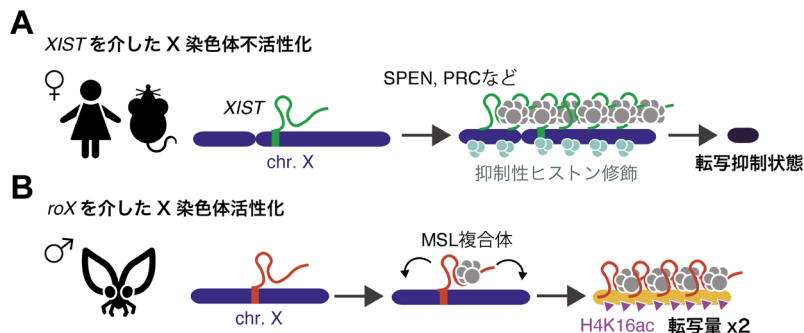


図4 長鎖非コードRNAによるX染色体遺伝子量補正

(A)哺乳類*XIST*を介した遺伝子量補正と(B)ショウジョウバエ*roX*を介した遺伝子量補正のモデル。(A)*XIST*はSPENタンパク質およびポリコムタンパク質(PCR)と相互作用し、雌X染色体の転写を抑制する。一方で、*roX1/2*はMSL複合体と相互作用し、雄X染色体の転写を活性化させる。

4. おわりに

本稿では、小分子RNAを中心に、非コードRNAによる転写制御に関する知見をまとめてきた。加えて、多彩な機能を持つlncRNAの一例として、遺伝子量補正に関与するXISTおよびroXに焦点をあてて紹介した。lncRNAはその数が20万種類ともいわれており、翻訳されずにRNAとして長期的にとどまることができるという性質から、さまざまなタンパク質と複合体を形成し、位置情報の規定により転写抑制をはじめとした機能的役割を担う。RNA特有の、特定のタンパク質を特定の空間に凝集させることができるという性質が、lncRNAが果たす機能的意義の鍵となっているとも考えられる。

成熟型小分子RNAはその長さが20~30塩基程度と短く、Argonauteタンパク質と複合体を形成するとほぼ全長が覆われてしまうため、lncRNAのように多彩なタンパク質の足場として小分子RNAが直接的に機能することはない。ただ、小分子RNAはlncRNA様の前駆体RNAからプロセッシングされ成熟型になることから、プロセッシング過程でさまざまな構造体形成が主要な役割を果たしている。実際に、piRNA前駆体にはシスエレメントが含まれており、これにYbタンパク質がトランス作用因子として特異的に結合し、Ybボディと呼ばれる液-液相分離(liquid-liquid phase separation: LLPS)構造体の形成を誘導する^{113,114)}。

また、piRNAを介したトランスポゾンの転写抑制時にも、核膜付近への局在やゲノム3次元構造変化が誘導されることから、空間的な配置の制御が重要な役割を果たすことが想像できる。先述したpiRNAサイレンシング複合体と相互作用するCtpについては、二量体形成を通して、*in vitro*ではLLPS様の構造体を形成する^{30,31)}。さらに、piRISCの抑制対象となるトランスポゾンの新生RNAに着目してみても、これが多くのタンパク質が結合した長鎖RNAという見方もでき、構造体形成の核として作用する可能性も考えられる。たとえば、ショウジョウバエpiRNA標的トランスポゾン抑制時にH3K9me3に結合するHP1aはLLPS様構造体形成能を持つタンパク質として知られている^{115,116)}。また、非コードRNAによる転写制御の文脈ではないものの、近年トランスポゾン由来のRNAが核となる構造体形成が転写構造体を乗っ取り、これが発生や疾患の制御に重要な役割を果たすという興味深い報告もある¹¹⁷⁾。構造体形成が小分子RNAを介した転写抑制に果たす役割の詳細も今後明らかになっていくことが期待される。

謝辞

本稿執筆にあたりご協力いただいた北海道大学の中川真一さん、理化学研究所の大西遼さんに感謝申し上げます。

文 献

- 1) Czech, B., Munafò, M., Ciabrelli, F., Eastwood, E.L., Fabry, M.H., Kneuss, E., & Hannon, G.J. (2018) piRNA-guided genome defense: From biogenesis to silencing. *Annu. Rev. Genet.*, **52**, 131–157.
- 2) Iwasaki, Y.W., Siomi, M.C., & Siomi, H. (2015) PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions. *Annu. Rev. Biochem.*, **84**, 405–433.
- 3) Onishi, R., Yamanaka, S., & Siomi, M.C. (2021) piRNA- and siRNA-mediated transcriptional repression in *Drosophila*, mice, and yeast: new insights and biodiversity. *EMBO Rep.*, **22**, e53062.
- 4) Klattenhoff, C., Bratu, D.P., McGinnis-Schultz, N., Koppetsch, B.S., Cook, H.A., & Theurkauf, W.E. (2007) *Drosophila* rasiRNA pathway mutations disrupt embryonic axis specification through activation of an ATR/Chk2 DNA damage response. *Dev. Cell*, **12**, 45–55.
- 5) De Fazio, S., Bartonicek, N., Di Giacomo, M., Abreu-Goodger, C., Sankar, A., Funaya, C., Antony, C., Moreira, P.N., Enright, A.J., & O'Carroll, D. (2011) The endonuclease activity of Mili fuels piRNA amplification that silences LINE1 elements. *Nature*, **480**, 259–263.
- 6) Saito, K., Inagaki, S., Mituyama, T., Kawamura, Y., Ono, Y., Sakota, E., Kotani, H., Asai, K., Siomi, H., & Siomi, M.C. (2009) A regulatory circuit for piwi by the large Maf gene traffic jam in *Drosophila*. *Nature*, **461**, 1296–1299.
- 7) Sienski, G., Donertas, D., & Brennecke, J. (2012) Transcriptional silencing of transposons by Piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression. *Cell*, **151**, 964–980.
- 8) Yamaguchi, S., Oe, A., Nishida, K.M., Yamashita, K., Kajiyama, A., Hirano, S., Matsumoto, N., Dohmae, N., Ishitani, R., Saito, K., et al. (2020) Crystal structure of *Drosophila* Piwi. *Nat. Commun.*, **11**, 858.
- 9) Beckedorff, F.C., Ayupe, A.C., Crocci-Souza, R., Amaral, M.S., Nakaya, H.I., Soltys, D.T., Menck, C.F., Reis, E.M., & Verjovski-Almeida, S. (2013) The intronic long noncoding RNA ANRASSF1 recruits PRC2 to the RASSF1A promoter, reducing the expression of RASSF1A and increasing cell proliferation. *PLoS Genet.*, **9**, e1003705.
- 10) Latos, P.A., Pauler, F.M., Koerner, M.V., Şenergin, H.B., Hudson, Q.J., Stocsits, R.R., Allhoff, W., Stricker, S.H., Kliment, R.M., Warczok, K.E., et al. (2012) Aim transcriptional overlap, but not its lncRNA products, induces imprinted Igf2r silencing. *Science*, **338**, 1469–1472.
- 11) Stojic, L., Niemczyk, M., Orjalo, A., Ito, Y., Ruijter, A.E., Uribe-Lewis, S., Joseph, N., Weston, S., Menon, S., Odom, D.T., et al. (2016) Transcriptional silencing of long noncoding RNA GNG12-AS1 uncouples its transcriptional and product-related functions. *Nat. Commun.*, **7**, 10406.
- 12) Thebault, P., Boutin, G., Bhat, W., Rufiange, A., Martens, J., & Nourani, A. (2011) Transcription regulation by the noncoding RNA SRG1 requires Spt2-dependent chromatin deposition in the wake of RNA polymerase II. *Mol. Cell. Biol.*, **31**, 1288–1300.
- 13) Rom, A., Melamed, L., Gil, N., Goldrich, M.J., Kadir, R., Golan, M., Biton, I., Perry, R.B., & Ulitsky, I. (2019) Regulation of CHD2 expression by the Chaserr long noncoding RNA gene is essential for viability. *Nat. Commun.*, **10**, 5092.
- 14) Tomita, S., Abdalla, M.O.A., Fujiwara, S., Matsumori, H., Maehara, K., Ohkawa, Y., Iwase, H., Saitoh, N., & Nakao, M. (2015) A cluster of noncoding RNAs activates the ESR1 locus during breast cancer adaptation. *Nat. Commun.*, **6**, 6966.
- 15) Gil, N. & Ulitsky, I. (2018) Production of spliced long noncod-

1) Czech, B., Munafò, M., Ciabrelli, F., Eastwood, E.L., Fabry,

- ing RNAs specifies regions with increased enhancer activity. *Cell Syst.*, **7**, 537–547 e533.
- 16) Tan, J., Sun, M., Luo, Q., Sun, H., Wang, M., Jiang, C., Li, S., & He, Y. (2021) Arsenic exposure increased expression of HOTAIR and LincRNA-p21 in vivo and vitro. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **28**, 587–596.
 - 17) Statello, L., Guo, C.J., Chen, L.L., & Huarte, M. (2021) Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **22**, 96–118.
 - 18) Yao, R.W., Wang, Y., & Chen, L.L. (2019) Cellular functions of long noncoding RNAs. *Nat. Cell Biol.*, **21**, 542–551.
 - 19) Onishi, R., Sato, K., Murano, K., Negishi, L., Siomi, H., & Siomi, M.C. (2020) Piwi suppresses transcription of Brahma-dependent transposons via Maelstrom in ovarian somatic cells. *Sci. Adv.*, **6**, eaz7420.
 - 20) Chang, T.H., Mattei, E., Gainetdinov, I., Colpan, C., Weng, Z., & Zamore, P.D. (2019) Maelstrom represses canonical polymerase II transcription within bi-directional piRNA clusters in drosophila melanogaster. *Mol. Cell*, **73**, 291–303 e296.
 - 21) Lim, A.K. & Kai, T. (2007) Unique germ-line organelle, nuage, functions to repress selfish genetic elements in Drosophila melanogaster. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 6714–6719.
 - 22) Wilson, B.G. & Roberts, C.W. (2011) SWI/SNF nucleosome remodellers and cancer. *Nat. Rev. Cancer*, **11**, 481–492.
 - 23) Batki, J., Schnabl, J., Wang, J., Handler, D., Andreev, V.I., Stieger, C.E., Novatchkova, M., Lampersberger, L., Kauneck-aite, K., Xie, W., et al. (2019) The nascent RNA binding complex SFiNX licenses piRNA-guided heterochromatin formation. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **26**, 720–731.
 - 24) Fabry, M.H., Ciabrelli, F., Munafò, M., Eastwood, E.L., Kneuss, E., Falciatori, I., Falconio, F.A., Hannon, G.J., & Czech, B. (2019) piRNA-guided co-transcriptional silencing coopts nuclear export factors. *eLife*, **8**, e47999.
 - 25) Murano, K., Iwasaki, Y.W., Ishizu, H., Mashiko, A., Shibuya, A., Kondo, S., Adachi, S., Suzuki, S., Saito, K., Natsume, T., et al. (2019) Nuclear RNA export factor variant initiates piRNA-guided co-transcriptional silencing. *EMBO J.*, **38**, e102870.
 - 26) Zhao, K., Cheng, S., Miao, N., Xu, P., Lu, X., Zhang, Y., Wang, M., Ouyang, X., Yuan, X., Liu, W., et al. (2019) A Pandas complex adapted for piRNA-guided transcriptional silencing and heterochromatin formation. *Nat. Cell Biol.*, **21**, 1261–1272.
 - 27) Sienski, G., Batki, J., Senti, K.A., Dönertas, D., Tirian, L., Meixner, K., & Brennecke, J. (2015) Silencio/CG9754 connects the Piwi-piRNA complex to the cellular heterochromatin machinery. *Genes Dev.*, **29**, 2258–2271.
 - 28) Yu, Y., Gu, J., Jin, Y., Luo, Y., Preall, J.B., Ma, J., Czech, B., & Hannon, G.J. (2015) Panoramix enforces piRNA-dependent cotranscriptional silencing. *Science*, **350**, 339–342.
 - 29) Suyama, M., Doerks, T., Braun, I.C., Sattler, M., Izaurralde, E., & Bork, P. (2000) Prediction of structural domains of TAP reveals details of its interaction with p15 and nucleoporins. *EMBO Rep.*, **1**, 53–58.
 - 30) Eastwood, E.L., Jara, K.A., Bornelöv, S., Munafò, M., Frantzis, V., Kneuss, E., Barbar, E.J., Czech, B., & Hannon, G.J. (2021) Dimerisation of the PICTS complex via LC8/Cut-up drives co-transcriptional transposon silencing in Drosophila. *eLife*, **10**, e65557.
 - 31) Schnabl, J., Wang, J., Hohmann, U., Gehre, M., Batki, J., Andreev, V.I., Purkhauer, K., Fasching, N., Duchek, P., Novatchkova, M., et al. (2021) Molecular principles of Piwi-mediated cotranscriptional silencing through the dimeric SFiNX complex. *Genes Dev.*, **35**, 392–409.
 - 32) Jespersen, N. & Barbar, E. (2020) Emerging features of linear motif-binding hub proteins. *Trends Biochem. Sci.*, **45**, 375–384.
 - 33) Donertas, D., Sienski, G., & Brennecke, J. (2013) Drosophila Gtsf1 is an essential component of the Piwi-mediated transcriptional silencing complex. *Genes Dev.*, **27**, 1693–1705.
 - 34) Muerdter, F., Guzzardo, P.M., Gillis, J., Luo, Y., Yu, Y., Chen, C., Fekete, R., & Hannon, G.J. (2013) A genome-wide RNAi screen draws a genetic framework for transposon control and primary piRNA biogenesis in Drosophila. *Mol. Cell*, **50**, 736–748.
 - 35) Ohtani, H., Iwasaki, Y.W., Shibuya, A., Siomi, H., Siomi, M.C., & Saito, K. (2013) DmGTSF1 is necessary for Piwi-piRISC-mediated transcriptional transposon silencing in the Drosophila ovary. *Genes Dev.*, **27**, 1656–1661.
 - 36) Osumi, K., Sato, K., Murano, K., Siomi, H., & Siomi, M.C. (2019) Essential roles of Windei and nuclear monoubiquitination of Eggless/SETDB1 in transposon silencing. *EMBO Rep.*, **20**, e48296.
 - 37) Mugat, B., Nicot, S., Varela-Chavez, C., Jourdan, C., Sato, K., Basyuk, E., Juge, F., Siomi, M.C., Pélisson, A., & Chambeyron, S. (2020) The Mi-2 nucleosome remodeler and the Rpd3 histone deacetylase are involved in piRNA-guided heterochromatin formation. *Nat. Commun.*, **11**, 2818.
 - 38) Bowen, N.J., Fujita, N., Kajita, M., & Wade, P.A. (2004) Mi-2/NuRD: multiple complexes for many purposes. *Biochim. Biophys. Acta Gene Struct. Expr.*, **1677**, 52–57.
 - 39) Kunert, N., Wagner, E., Murawska, M., Klinker, H., Kremmer, E., & Brehm, A. (2009) dMec: a novel Mi-2 chromatin remodelling complex involved in transcriptional repression. *EMBO J.*, **28**, 533–544.
 - 40) Ninova, M., Chen, Y.A., Godneeva, B., Rogers, A.K., Luo, Y., Fejes Tóth, K., & Aravin, A.A. (2020) Su(var)2-10 and the SUMO pathway link piRNA-guided target recognition to chromatin silencing. *Mol. Cell*, **77**, 556–570 e556.
 - 41) Andreev, V.I., Yu, C., Wang, J., Schnabl, J., Tirian, L., Gehre, M., Handler, D., Duchek, P., Novatchkova, M., Baumgartner, L., et al. (2022) Panoramix SUMOylation on chromatin connects the piRNA pathway to the cellular heterochromatin machinery. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **29**, 130–142.
 - 42) Klenov, M.S., Sokolova, O.A., Yakushev, E.Y., Stolyarenko, A.D., Mikhaleva, E.A., Lavrov, S.A., & Gvozdev, V.A. (2011) Separation of stem cell maintenance and transposon silencing functions of Piwi protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 18760–18765.
 - 43) Le Thomas, A., Stuwe, E., Li, S., Du, J., Marinov, G., Rozhkov, N., Chen, Y.C., Luo, Y., Sachidanandam, R., Toth, K.F., et al. (2014) Transgenerationally inherited piRNAs trigger piRNA biogenesis by changing the chromatin of piRNA clusters and inducing precursor processing. *Genes Dev.*, **28**, 1667–1680.
 - 44) Wang, S.H. & Elgin, S.C. (2011) Drosophila Piwi functions downstream of piRNA production mediating a chromatin-based transposon silencing mechanism in female germ line. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 21164–21169.
 - 45) Iwasaki, Y.W., Murano, K., Ishizu, H., Shibuya, A., Iyoda, Y., Siomi, M.C., Siomi, H., & Saito, K. (2016) Piwi modulates chromatin accessibility by regulating multiple factors including histone H1 to repress transposons. *Mol. Cell*, **63**, 408–419.
 - 46) Iwasaki, Y.W., Sriswasdi, S., Kinugasa, Y., Adachi, J., Horikoshi, Y., Shibuya, A., Iwasaki, W., Tashiro, S., Tomonaga, T.,

- & Siomi, H. (2021) Piwi-piRNA complexes induce stepwise changes in nuclear architecture at target loci. *EMBO J.*, **40**, e108345.
- 47) Carmell, M.A., Girard, A., van de Kant, H.J., Bourc'his, D., Bestor, T.H., de Rooij, D.G., & Hannon, G.J. (2007) MIWI2 is essential for spermatogenesis and repression of transposons in the mouse male germline. *Dev. Cell*, **12**, 503–514.
 - 48) Aravin, A., Gaidatzis, D., Pfeffer, S., Lagos-Quintana, M., Landgraf, P., Iovino, N., Morris, P., Brownstein, M.J., Kuramochi-Miyagawa, S., Nakano, T., et al. (2006) A novel class of small RNAs bind to MILI protein in mouse testes. *Nature*, **442**, 203–207.
 - 49) Deng, W. & Lin, H. (2002) miwi, a murine homolog of piwi, encodes a cytoplasmic protein essential for spermatogenesis. *Dev. Cell*, **2**, 819–830.
 - 50) Kuramochi-Miyagawa, S., Kimura, T., Ijiri, T.W., Isobe, T., Asada, N., Fujita, Y., Ikawa, M., Iwai, N., Okabe, M., Deng, W., et al. (2004) Mili, a mammalian member of piwi family gene, is essential for spermatogenesis. *Development*, **131**, 839–849.
 - 51) Kuramochi-Miyagawa, S., Kimura, T., Yomogida, K., Kuroiwa, A., Tadokoro, Y., Fujita, Y., Sato, M., Matsuda, Y., & Nakano, T. (2001) Two mouse piwi-related genes: miwi and mili. *Mech. Dev.*, **108**, 121–133.
 - 52) Reik, W., Dean, W., & Walter, J. (2001) Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science*, **293**, 1089–1093.
 - 53) Sasaki, H. & Matsui, Y. (2008) Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. *Nat. Rev. Genet.*, **9**, 129–140.
 - 54) Kobayashi, H., Iwai, K., Niino, E., Morioka, S., & Yamada, Y. (2014) Fetal programming theory: implication for the understanding of endometriosis. *Hum. Immunol.*, **75**, 208–217.
 - 55) Kubo, N., Toh, H., Shirane, K., Shirakawa, T., Kobayashi, H., Sato, T., Sone, H., Sato, Y., Tomizawa, S., Tsurusaki, Y., et al. (2015) DNA methylation and gene expression dynamics during spermatogonial stem cell differentiation in the early postnatal mouse testis. *BMC Genomics*, **16**, 624.
 - 56) Molaro, A., Falcatori, I., Hodges, E., Aravin, A.A., Marran, K., Rafii, S., McCombie, W.R., Smith, A.D., & Hannon, G.J. (2014) Two waves of de novo methylation during mouse germ cell development. *Genes Dev.*, **28**, 1544–1549.
 - 57) Popp, C., Dean, W., Feng, S., Cokus, S.J., Andrews, S., Pellegrini, M., Jacobsen, S.E., & Reik, W. (2010) Genome-wide erasure of DNA methylation in mouse primordial germ cells is affected by AID deficiency. *Nature*, **463**, 1101–1105.
 - 58) Seisenberger, S., Andrews, S., Krueger, F., Arand, J., Walter, J., Santos, F., Popp, C., Thienpont, B., Dean, W., & Reik, W. (2012) The dynamics of genome-wide DNA methylation reprogramming in mouse primordial germ cells. *Mol. Cell*, **48**, 849–862.
 - 59) Kuramochi-Miyagawa, S., Watanabe, T., Gotoh, K., Totoki, Y., Toyoda, A., Ikawa, M., Asada, N., Kojima, K., Yamaguchi, Y., Ijiri, T.W., et al. (2008) DNA methylation of retrotransposon genes is regulated by Piwi family members MILI and MIWI2 in murine fetal testes. *Genes Dev.*, **22**, 908–917.
 - 60) Barau, J., Teissandier, A., Zamudio, N., Roy, S., Nalesso, V., Héroult, Y., Guillou, F., & Bourc'his, D. (2016) The DNA methyltransferase DNMT3C protects male germ cells from transposon activity. *Science*, **354**, 909–912.
 - 61) Bourc'his, D. & Bestor, T.H. (2004) Meiotic catastrophe and retrotransposon reactivation in male germ cells lacking Dnmt3L. *Nature*, **431**, 96–99.
 - 62) Chedin, F., Lieber, M.R., & Hsieh, C.L. (2002) The DNA methyltransferase-like protein DNMT3L stimulates de novo methylation by Dnmt3a. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16916–16921.
 - 63) Kaneda, M., Okano, M., Hata, K., Sado, T., Tsujimoto, N., Li, E., & Sasaki, H. (2004) Essential role for de novo DNA methyltransferase Dnmt3a in paternal and maternal imprinting. *Nature*, **429**, 900–903.
 - 64) Suetake, I., Shinozaki, F., Miyagawa, J., Takeshima, H., & Tajima, S. (2004) DNMT3L stimulates the DNA methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3b through a direct interaction. *J. Biol. Chem.*, **279**, 27816–27823.
 - 65) Veland, N., Lu, Y., Hardikar, S., Gaddis, S., Zeng, Y., Liu, B., Estecio, M.R., Takata, Y., Lin, K., Tomida, M.W., et al. (2019) DNMT3L facilitates DNA methylation partly by maintaining DNMT3A stability in mouse embryonic stem cells. *Nucleic Acids Res.*, **47**, 152–167.
 - 66) Shoji, M., Tanaka, T., Hosokawa, M., Reuter, M., Stark, A., Kato, Y., Kondoh, G., Okawa, K., Chujo, T., Suzuki, T., et al. (2009) The TDRD9-MIWI2 complex is essential for piRNA-mediated retrotransposon silencing in the mouse male germline. *Dev. Cell*, **17**, 775–787.
 - 67) Wenda, J.M., Homolka, D., Yang, Z., Spinelli, P., Sachidanandam, R., Pandey, R.R., & Pillai, R.S. (2017) Distinct roles of RNA helicases MVH and TDRD9 in PIWI slicing-triggered mammalian piRNA biogenesis and function. *Dev. Cell*, **41**, 623–637 e629.
 - 68) Schopp, T., Zoch, A., Berrens, R.V., Auchynnikava, T., Kabayama, Y., Vasiliauskaitė, L., Rappsilber, J., Allshire, R.C., & O'Carroll, D. (2020) TEX15 is an essential executor of MIWI2-directed transposon DNA methylation and silencing. *Nat. Commun.*, **11**, 3739.
 - 69) Yang, F., Lan, Y., Pandey, R.R., Homolka, D., Berger, S.L., Pillai, R.S., Bartolomei, M.S., & Wang, P.J. (2020) TEX15 associates with MILI and silences transposable elements in male germ cells. *Genes Dev.*, **34**, 745–750.
 - 70) Zoch, A., Auchynnikava, T., Berrens, R.V., Kabayama, Y., Schöpp, T., Heep, M., Vasiliauskaitė, L., Pérez-Rico, Y.A., Cook, A.G., Shkumatava, A., et al. (2020) SPOCD1 is an essential executor of piRNA-directed de novo DNA methylation. *Nature*, **584**, 635–639.
 - 71) Zoch, A., Konieczny, G., Auchynnikava, T., Stallmeyer, B., Rotte, N., Heep, M., Berrens, R.V., Schito, M., Kabayama, Y., Schöpp, T., et al. (2024) C19ORF84 connects piRNA and DNA methylation machineries to defend the mammalian germline. *Mol. Cell*, **84**, 1021–1035 e1011.
 - 72) Inoue, N., Hess, K.D., Moreadith, R.W., Richardson, L.L., Handel, M.A., Watson, M.L., & Zinn, A.R. (1999) New gene family defined by MORC, a nuclear protein required for mouse spermatogenesis. *Hum. Mol. Genet.*, **8**, 1201–1207.
 - 73) Watson, M.L., Zinn, A.R., Inoue, N., Hess, K.D., Cobb, J., Handel, M.A., Halaban, R., Duchene, C.C., Albright, G.M., & Moreadith, R.W. (1998) Identification of more (microrchidia), a mutation that results in arrest of spermatogenesis at an early meiotic stage in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 14361–14366.
 - 74) Pastor, W.A., Stroud, H., Nee, K., Liu, W., Pezic, D., Manakov, S., Lee, S.A., Moissiard, G., Zamudio, N., Bourc'his, D., et al. (2014) MORC1 represses transposable elements in the mouse male germline. *Nat. Commun.*, **5**, 5795.
 - 75) Uneme, Y., Maeda, R., Nakayama, G., Narita, H., Takeda, N., Hiramatsu, R., Nishihara, H., Nakato, R., Kanai, Y., Araki,

- K., et al. (2024) Morc1 reestablishes H3K9me3 heterochromatin on piRNA-targeted transposons in gonocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **121**, e2317095121.
- 76) Liu, S., Brind'Amour, J., Karimi, M.M., Shirane, K., Bogutz, A., Lefebvre, L., Sasaki, H., Shinkai, Y., & Lorincz, M.C. (2014) Setdb1 is required for germline development and silencing of H3K9me3-marked endogenous retroviruses in primordial germ cells. *Genes Dev.*, **28**, 2041–2055.
- 77) Reinhart, B.J. & Bartel, D.P. (2002) Small RNAs correspond to centromere heterochromatic repeats. *Science*, **297**, 1831.
- 78) Verdel, A., Jia, S., Gerber, S., Sugiyama, T., Gygi, S., Grewal, S.I., & Moazed, D. (2004) RNAi-mediated targeting of heterochromatin by the RITS complex. *Science*, **303**, 672–676.
- 79) Volpe, T.A., Kidner, C., Hall, I.M., Teng, G., Grewal, S.I., & Martienssen, R.A. (2002) Regulation of heterochromatic silencing and histone H3 lysine-9 methylation by RNAi. *Science*, **297**, 1833–1837.
- 80) Motamedi, M.R., Verdel, A., Colmenares, S.U., Gerber, S.A., Gygi, S.P., & Moazed, D. (2004) Two RNAi complexes, RITS and RDRC, physically interact and localize to noncoding centromeric RNAs. *Cell*, **119**, 789–802.
- 81) Noma, K., Sugiyama, T., Cam, H., Verdel, A., Zofall, M., Jia, S., Moazed, D., & Grewal, S.I. (2004) RITS acts in cis to promote RNA interference-mediated transcriptional and post-transcriptional silencing. *Nat. Genet.*, **36**, 1174–1180.
- 82) Grewal, S.I. & Jia, S. (2007) Heterochromatin revisited. *Nat. Rev. Genet.*, **8**, 35–46.
- 83) Kato, H., Goto, D.B., Martienssen, R.A., Urano, T., Furukawa, K., & Murakami, Y. (2005) RNA polymerase II is required for RNAi-dependent heterochromatin assembly. *Science*, **309**, 467–469.
- 84) Sugiyama, T., Cam, H., Verdel, A., Moazed, D., & Grewal, S.I. (2005) RNA-dependent RNA polymerase is an essential component of a self-enforcing loop coupling heterochromatin assembly to siRNA production. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 152–157.
- 85) Colmenares, S.U., Buker, S.M., Buhler, M., Dlakić, M., & Moazed, D. (2007) Coupling of double-stranded RNA synthesis and siRNA generation in fission yeast RNAi. *Mol. Cell*, **27**, 449–461.
- 86) Provost, P., Silverstein, R.A., Dishart, D., Walfridsson, J., Djupedal, I., Kniola, B., Wright, A., Samuelsson, B., Radmark, O., & Ekwall, K. (2002) Dicer is required for chromosome segregation and gene silencing in fission yeast cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16648–16653.
- 87) Buker, S.M., Iida, T., Buhler, M., Villén, J., Gygi, S.P., Nakayama, J., & Moazed, D. (2007) Two different Argonaute complexes are required for siRNA generation and heterochromatin assembly in fission yeast. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **14**, 200–207.
- 88) Schalch, T., Job, G., Shanker, S., Partridge, J.F., & Joshua-Tor, L. (2011) The Chp1-Tas3 core is a multifunctional platform critical for gene silencing by RITS. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 1351–1357.
- 89) Horn, P.J., Bastie, J.N., & Peterson, C.L. (2005) A Rik1-associated, cullin-dependent E3 ubiquitin ligase is essential for heterochromatin formation. *Genes Dev.*, **19**, 1705–1714.
- 90) Jia, S., Kobayashi, R., & Grewal, S.I. (2005) Ubiquitin ligase component Cul4 associates with Clr4 histone methyltransferase to assemble heterochromatin. *Nat. Cell Biol.*, **7**, 1007–1013.
- 91) Zhang, K., Mosch, K., Fischle, W., & Grewal, S.I. (2008) Roles of the Clr4 methyltransferase complex in nucleation, spreading and maintenance of heterochromatin. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **15**, 381–388.
- 92) Nakayama, J., Rice, J.C., Strahl, B.D., Allis, C.D., & Grewal, S.I. (2001) Role of histone H3 lysine 9 methylation in epigenetic control of heterochromatin assembly. *Science*, **292**, 110–113.
- 93) Rea, S., Eisenhaber, F., O'Carroll, D., Strahl, B.D., Sun, Z.W., Schmid, M., Opravil, S., Mechtler, K., Ponting, C.P., Allis, C.D., et al. (2000) Regulation of chromatin structure by site-specific histone H3 methyltransferases. *Nature*, **406**, 593–599.
- 94) Schotta, G., Ebert, A., Krauss, V., Fischer, A., Hoffmann, J., Rea, S., Jenuwein, T., Dorn, R., & Reuter, G. (2002) Central role of Drosophila SU(VAR)3-9 in histone H3-K9 methylation and heterochromatic gene silencing. *EMBO J.*, **21**, 1121–1131.
- 95) Cam, H.P., Sugiyama, T., Chen, E.S., Chen, X., FitzGerald, P.C., & Grewal, S.I. (2005) Comprehensive analysis of heterochromatin- and RNAi-mediated epigenetic control of the fission yeast genome. *Nat. Genet.*, **37**, 809–819.
- 96) Petrie, V.J., Wuitschick, J.D., Givens, C.D., Kosinski, A.M., & Partridge, J.F. (2005) RNA interference (RNAi)-dependent and RNAi-independent association of the Chp1 chromodomain protein with distinct heterochromatic loci in fission yeast. *Mol. Cell Biol.*, **25**, 2331–2346.
- 97) Schalch, T., Job, G., Noffsinger, V.J., Shanker, S., Kucsu, C., Joshua-Tor, L., & Partridge, J.F. (2009) High-affinity binding of Chp1 chromodomain to K9 methylated histone H3 is required to establish centromeric heterochromatin. *Mol. Cell*, **34**, 36–46.
- 98) Wutz, A. (2011) Gene silencing in X-chromosome inactivation: advances in understanding facultative heterochromatin formation. *Nat. Rev. Genet.*, **12**, 542–553.
- 99) Jiang, J., Jing, Y., Cost, G.J., Chiang, J.C., Kolpa, H.J., Cotton, A.M., Carone, D.M., Carone, B.R., Shivak, D.A., Guschin, D.Y., et al. (2013) Translating dosage compensation to trisomy 21. *Nature*, **500**, 296–300.
- 100) Colognori, D., Sunwoo, H., Kriz, A.J., Wang, C.Y., & Lee, J.T. (2019) Xist deletional analysis reveals an interdependency between Xist RNA and polycomb complexes for spreading along the inactive X. *Mol. Cell*, **74**, 101–117 e110.
- 101) Jeon, Y. & Lee, J.T. (2011) YY1 tethers Xist RNA to the inactive X nucleation center. *Cell*, **146**, 119–133.
- 102) McHugh, C.A., Chen, C.K., Chow, A., Surka, C.F., Tran, C., McDonel, P., Pandya-Jones, A., Blanco, M., Burghard, C., Moradian, A., et al. (2015) The Xist lncRNA interacts directly with SHARP to silence transcription through HDAC3. *Nature*, **521**, 232–236.
- 103) Pintacuda, G., Wei, G., Roustan, C., Kirmizitas, B.A., Solcan, N., Cerase, A., Castello, A., Mohammed, S., Moindrot, B., Nesterova, T.B., et al. (2017) hnRNPK recruits PCGF3/5-PRC1 to the Xist RNA B-repeat to establish polycomb-mediated chromosomal silencing. *Mol. Cell*, **68**, 955–969 e910.
- 104) Engreitz, J.M., Pandya-Jones, A., McDonel, P., Shishkin, A., Sirokman, K., Surka, C., Kadri, S., Xing, J., Goren, A., Lander, E.S., et al. (2013) The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome. *Science*, **341**, 1237973.
- 105) Baker, B.S., Gorman, M., & Marin, I. (1994) Dosage compensation in Drosophila. *Annu. Rev. Genet.*, **28**, 491–521.
- 106) Mukherjee, A.S. & Beermann, W. (1965) Synthesis of ribonucleic acid by the X-chromosomes of Drosophila melanogaster and the problem of dosage compensation. *Nature*, **207**, 785–786.

- 107) Samata, M. & Akhtar, A. (2018) Dosage compensation of the X chromosome: A complex epigenetic assignment involving chromatin regulators and long noncoding RNAs. *Annu. Rev. Biochem.*, **87**, 323–350.
- 108) Conrad, T. & Akhtar, A. (2012) Dosage compensation in *Drosophila melanogaster*: epigenetic fine-tuning of chromosome-wide transcription. *Nat. Rev. Genet.*, **13**, 123–134.
- 109) Franke, A. & Baker, B.S. (1999) The rox1 and rox2 RNAs are essential components of the compensasome, which mediates dosage compensation in *Drosophila*. *Mol. Cell*, **4**, 117–122.
- 110) Rodriguez, M.A., Vermaak, D., Bayes, J.J., & Malik, H.S. (2007) Species-specific positive selection of the male-specific lethal complex that participates in dosage compensation in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 15412–15417.
- 111) Ilik, I. & Akhtar, A. (2009) roX RNAs: non-coding regulators of the male X chromosome in flies. *RNA Biol.*, **6**, 113–121.
- 112) Ramirez, F., Lingg, T., Toscano, S., Lam, K.C., Georgiev, P., Chung, H.R., Lajoie, B.R., de Wit, E., Zhan, Y., de Laat, W., et al. (2015) High-affinity sites form an interaction network to facilitate spreading of the MSL complex across the X chromosome in *Drosophila*. *Mol. Cell*, **60**, 146–162.
- 113) Hirakata, S., Ishizu, H., Fujita, A., Tomoe, Y., & Siomi, M.C. (2019) Requirements for multivalent Yb body assembly in transposon silencing in *Drosophila*. *EMBO Rep.*, **20**, e47708.
- 114) Ishizu, H., Iwasaki, Y.W., Hirakata, S., Ozaki, H., Iwasaki, W., Siomi, H., & Siomi, M.C. (2015) Somatic primary piRNA biogenesis driven by cis-acting RNA elements and trans-acting Yb. *Cell Rep.*, **12**, 429–440.
- 115) Larson, A.G., Elnatan, D., Keenen, M.M., Trnka, M.J., Johnston, J.B., Burlingame, A.L., Agard, D.A., Redding, S., & Narlikar, G.J. (2017) Liquid droplet formation by HP1alpha suggests a role for phase separation in heterochromatin. *Nature*, **547**, 236–240.
- 116) Strom, A.R., Emelyanov, A.V., Mir, M., Fyodorov, D.V., Darzacq, X., & Karpen, G.H. (2017) Phase separation drives heterochromatin domain formation. *Nature*, **547**, 241–245.
- 117) Asimi, V., Sampath Kumar, A., Niskanen, H., Riemenschneider, C., Hetzel, S., Naderi, J., Fasching, N., Popitsch, N., Du, M., Kretzmer, H., et al. (2022) Hijacking of transcriptional condensates by endogenous retroviruses. *Nat. Genet.*, **54**, 1238–1247.

著者寸描

●岩崎 由香 (いわさき ゆか)



理化学研究所生命医科学研究センター非コードゲノム機能研究チーム チームリーダー。博士 (学術)。

■略歴 2011年慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科修了。博士 (学術)。慶應義塾大学医学部分子生物学教室特任助教、助教、専任講師、准教授を経て、23年より現職。

■研究テーマと抱負 生物学の広大な未開拓領域として残されている非コードゲノム領域の機能メカニズムを明らかにすることを目指しています。

■ウェブサイト <https://www.yokohama.riken.jp/iwasakilab/>

■趣味 甥っ子たちに遊んでもらう。