

**ILF3のプリオン様ドメインは慢性ストレス下で  
遺伝子発現と恐怖記憶を制御する**

**ILF3 prion-like domain regulates gene expression and  
fear memory under chronic stress**

**総合研究大学院大学**

**生命科学研究所 基礎生物学専攻**

**基礎生物学研究所 神経細胞生物学研究室**

**山下映**

## 目次

|  |    |
|--|----|
| <序論>   | 1  |
| 1. 特定の立体構造をとらないプリオン様ドメイン   | 1  |
| 2. IDR/PrLDによるタンパク質機能多様化の仮説  | 2  |
| 3. NFAR1とNFAR2による転写・翻訳制御および細胞ストレス防御  | 2  |
| 4. NFAR1とNFAR2のPrLD依存性細胞内局在制御  | 3  |
| 5. 本研究で明らかにしたこと  | 4  |
| <材料と方法>  | 5  |
| <結果>   | 20 |
| 1. DZFファミリータンパク質の中で200アミノ酸以上の長いPrLDを持つものはNFAR2のみである                              | 20 |
| 2. NFAR2のPrLD欠損マウス ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウス) の作製                 | 20 |
| 3. NFAR2のPrLD欠損による核内NFARs含有顆粒に対する影響  | 22 |
| 4. NFAR2のPrLDはAMYにおける慢性ストレス感受性の核局在を担う  | 22 |
| 5. NFAR2のPrLDはAMYにおけるWIRS依存性mRNA発現・翻訳変化を制御する                                     | 23 |
| 6. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは体温と活動レベルの増加、不安様行動の減少、および恐怖条件付け学習の異常を示す | 26 |
| 7. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスでは恐怖刺激によるvHIPでのc-Fos発現上昇が抑圧される          | 27 |
| 8. NFAR2のPrLDは恐怖条件付け学習の記憶保持に慢性ストレス耐性を付与する  | 27 |
| <考察>   | 30 |
| <図表>   | 35 |
| 図1. 脊椎動物および酵母・植物で明らかにされてきたPrLDの役割  | 35 |
| 図2. NFAR2特異的なC末端アミノ酸残基はIDRかつPrLDである  | 36 |
| 図3. DZFファミリータンパク質の分子系統樹  | 37 |
| 図4. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの作製                                    | 39 |
| 図5. 核内のNFARs含有顆粒は、NFAR2のPrLD欠損によって数が減少するが、WIRSによる減少は観察されない                       | 41 |
| 図6. NFAR2のPrLD欠損は、NFARsの核局在を減少させ、扁桃体における慢性ストレス(WIRS) 負荷依存的な局在変化を抑圧する             | 43 |
| 図7. PrLD含有タンパク質TDP-43及びhnRNP A1はNFARsと異なりAMYにおけるWIRS依存的な局在変化を示さない                | 45 |
| 図8. AMYにおけるNFAR2 PrLD欠損およびWIRS負荷によるmRNA発現・翻訳変化の網羅的解析                             | 46 |
| 図9. mRNA発現・翻訳変化の比較解析   | 48 |
| 図10. WIRS応答性mRNAおよび個別mRNAの発現・翻訳変化  | 50 |

|   |       |
|---|-------|
| 図11.NFAR2のPrLD欠損によるmRNA発現・翻訳変化のモデル図   | 5 2   |
| 図12. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは正常な身体・感覚能力を持つが、体重減少・体温上昇・驚愕反応の低下を示す                               | 5 3   |
| 図13. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは運動量の増加、不安様行動の低下、うつ様行動の増加を示す                                       | 5 5   |
| 図14. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは社会性テストにおいて社会性に異常は見られないが、多動性を示す                                    | 5 7   |
| 図15. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは空間学習・記憶は正常だが、恐怖条件付けにおける恐怖反応の低下を示す                                 | 5 9   |
| 図16. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスではFS (恐怖刺激) によるvHIPにおけるc-Fos発現上昇が失われる                              | 6 1   |
| 図17. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスのAMY由来神経初代培養細胞は軸索の初期発達遅延を示す  | 6 3   |
| 図18. <i>Ilf3</i> <sup>+/-</sup> マウスおよび <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/-</sup> マウスの作製                                  | 6 4   |
| 図19. <i>Ilf3</i> の変異はマウスの空間記憶にほとんど影響を及ぼさない  | 6 6   |
| 図20. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは、WIRS負荷による恐怖記憶の更なる低下を示す   | 6 8   |
| 図21.本研究で明らかにしたNFAR2 PrLDのマウスにおける生理的意義   | 7 0   |
| 表1. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスにおけるWIRS負荷によるmRNA発現変化 (RNA-seq) (p値が小さい順に一部抜粋)                              | 7 2   |
| 表2. PrLD欠損によるmRNA発現変化 (RNA-seq) (p値が小さい順に一部抜粋)  | 7 6   |
| 表3. WIRSとPrLD欠損の複合効果によるmRNA発現の変化 (RNA-seq) (p値が小さい順に一部抜粋)   | 8 0   |
| 表4. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスでWIRSによってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果   | 8 4   |
| 表5. PrLD欠損によってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果  | 8 8   |
| 表6. WIRSとPrLD欠損の複合効果によってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果  | 8 9   |
| 表7. WIRS、PrLD欠損、WIRSとPrLD欠損の複合効果によるmRNA発現の変化 (図9A-9Cに関連) (一部抜粋)   | 9 2   |
| 表8. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスと <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスのWIRSによるmRNA発現変化の比較 (図9Dに関連) (一部抜粋) | 9 6   |
| 表9. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスにおけるWIRS負荷による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)                       | 1 0 0 |
| 表10.PrLD欠損による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)   | 1 0 4 |

|  |       |
|--|-------|
| 表11. WIRSとPrLD欠損の複合効果による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)   | 1 0 8 |
| 表12. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスでWIRSによって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果   | 1 1 2 |
| 表13. PrLD欠損によって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果  | 1 1 3 |
| 表14. WIRSとPrLD欠損の複合効果によって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果  | 1 1 4 |
| 表15. WIRS、PrLD欠失、WIRSとPrLD欠損の複合効果による翻訳変化 (図9E-9Gに関連) (一部抜粋)  | 1 1 5 |
| 表16. <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> マウスと <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスのWIRSによる翻訳変化の比較 (図9Hに関連) (一部抜粋) | 1 1 9 |
| 表17. WIRS応答性mRNAの発現変化 (図10Aに関連) (一部抜粋)   | 1 2 3 |
| 表18. WIRS応答性mRNAの翻訳変化 (図10Bに関連) (一部抜粋)   | 1 2 7 |
| 表19. WIRS応答性mRNAの翻訳効率変化 (図10Cに関連) (一部抜粋)   | 1 3 1 |
| 表20. <i>Mt</i> のmRNA発現変化 (図10Dに関連)   | 1 3 5 |
| 表21. <i>Mt</i> の翻訳変化 (図10Eに関連)   | 1 3 9 |
| 表22. <i>Mt</i> の翻訳効率変化 (図10Fに関連)   | 1 4 3 |
| 表23. <i>Hb</i> のmRNA発現変化 (図10Gに関連)   | 1 4 7 |
| 表24. <i>Hb</i> の翻訳変化 (図10Hに関連)   | 1 4 8 |
| 表25. <i>Hb</i> の翻訳効率変化 (図10Iに関連)   | 1 4 9 |
| 表26. <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの網羅的行動解析結果の一覧   | 1 5 0 |
| <謝辞>   | 1 5 1 |
| <参考文献>   | 1 5 3 |

## <序論>

### 1. 特定の立体構造をとらないプリオン様ドメイン

タンパク質は二次構造として $\alpha$ ヘリックスや $\beta$ シート構造を形成するが、そのような構造をとらない領域も存在し、「天然変性領域 (intrinsically disordered region, IDR)」と呼ばれている (Dyson and Wright, 2005)。特定の構造を取らないため、IDRは静電作用や疎水性作用を介して多様なタンパク質やRNAと多価で弱い相互作用、つまり複数の弱い結合点を作ることが可能であり、生体分子複合体のハブとなりやすい性質を持つ (Haynes et al., 2006; Shimizu and Toh, 2009; Gomes and Shorter, 2019)。このようなIDRの持つ多価相互作用は、液-液相分離 (liquid-liquid phase separation, LLPS) を引き起こして細胞内でコンデンセート (condensate) と呼ばれる構造を形成し、多様な細胞機能に参与している (Banani et al., 2017)。IDR含有タンパク質をハブとした細胞内コンデンセートの形成は、細胞内の様々な生化学反応を時空間的に促進的または抑制的に調節している (Boeynaems et al., 2018; Woodruff et al., 2018)。

IDRの一種であるプリオン様ドメイン (prion-like domain, PrLD) は、狂牛病などのプリオン病原因タンパク質であるプリオンと類似したアミノ酸組成 (グリシン、極性アミノ酸、芳香属アミノ酸に富む) のタンパク質ドメインである。PrLDは通常、特定の立体構造をとらないか $\alpha$ ヘリックス構造をとるが、 $\beta$ シート構造に転換すると、ゲル・固相へと転移して凝集化しやすい特徴を持つ (Patel et al., 2015)。このようなPrLDによる凝集体形成が、筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) や前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration, FTL) などの神経変性疾患の発症と関連していることが指摘されており、注目されてきた (Kato et al., 2012; Ling et al., 2013; Portz et al., 2021; Wang et al., 2018) (図1)。実際、PrLD含有タンパク質であるfused in sarcoma (FUS)、TAR DNA-binding protein-43 (TDP-43)、およびheterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 (hnRNPA1) の凝集体形成が神経変疾患患者で観察されており、凝集体を形成しやすくなるようなPrLDにおける変異が家族性神経変性疾患の遺伝的要因として指摘されている (Kim et al., 2013; Harrison and Shorter, 2017; Alberti and Hyman, 2021)。しかしながら、正常な細胞では、PrLD含有タンパク質は凝集体を形成してい

ないという報告が多く (Franzmann and Alberti, 2019; Maharana et al., 2018)、PrLDによる凝集化は生物にとって特殊な状態であると考えられる。

## 2. IDR/PrLDによるタンパク質機能多様化の仮説

IDRは真核生物に多く存在し、原核生物にはほとんど存在しない。真核生物では30残基以上のIDRを持つタンパク質は全体の30%程度を占めると予測されるのに対して、原核生物では5%以下である (Ward et al., 2004)。一般的に、ゲノムにコードされているIDRの長さは、生物の複雑さとともに増加することが報告されている (Xue et al., 2012; Niklas et al., 2018)。IDRは選択的スプライシングを受けるエクソンにコードされることが多いため (Romero et al., 2006; Dunker et al., 2008)、同一遺伝子からIDRの長さが異なる複数種類のタンパク質が合成されることも少なくない。こういったIDRのスプライシングによる脱着によって、様々なタンパク質間相互作用ネットワークの構築を可能にすることで、ゲノムサイズを変えずにタンパク質機能を拡張しているのかもしれない (Niklas et al., 2015; Babu, 2016)。実際、相同遺伝子や選択的スプライシングバリエーションの間でPrLDの長さが異なっており、こういったPrLDの多様性が環境応答や生物多様性において進化的な利点を与えたことが酵母や植物を対象とした研究から示唆されている (Halfmann et al., 2012; Jung et al., 2020; Dorone et al., 2021) (図1)。しかし脊椎動物では、PrLDの病理学的側面が注目される一方で、PrLDの生物学的意義や生理的意義についての研究はあまり進んでいないのが現状である。

## 3. NFAR1とNFAR2による転写・翻訳制御および細胞ストレス防御機能

Interleukin enhancer-binding factor 3 (*Ilf3*) は、原核細胞や単細胞真核生物、植物には存在せず、脊椎動物のみで保存されたストレス応答に関連する遺伝子である (Harashima et al., 2010; Castella et al., 2015)。*Ilf3*から選択的スプライシングによって nuclear factor associated with dsRNA 1 (NFAR1, 別名NF90) とNFAR2 (別名NF110, ILF3) の2種類のタンパク質が合成される。NFAR2はC末端に200アミノ酸を越える長いPrLDを持つ一方で、NFAR1はそれを持たない (Duchange et al., 2000; Batlle et al., 2017) (図2)。NFAR1とNFAR2はPrLDの有無以外は同一であり、どちらもダブルジンクフィンガードメイン (DZF) を1つ、二本鎖RNA結合ドメイン (dsRBM) を2つ、Arg-Gly-Gly/Arg-

Gly配列繰り返しモチーフ (RGG/RG motif) を1つ持っている (Castella et al., 2015) (図2)。主にこれらのDNA結合能やRNA結合能を持つモチーフを介して、NFAR1とNFAR2 (NFARs) のどちらもが転写・翻訳制御に関与することが知られている。*Ilf3*ノックアウトマウス (NFAR1とNFAR2の両方を欠損したマウス) は周産期で致死であり、NFARsはマウスの生存に必須である (Shi et al., 2005)。NFARsは核と細胞質間を行き来し (Brownawell and Macara, 2002)、その局在変化は転写・翻訳の調節に関わる (Parrott et al., 2005; Castella et al., 2015)。NFARsは通常核内に局在して転写調節因子として機能しており (Reichman et al., 2002; Reichman and Mathews, 2003)、その一部は核から細胞質へのmRNA輸送を担っている (Parrott et al., 2005; Pfeifer et al., 2008)。細胞がウイルス感染や酸化ストレスなどのストレスに曝されると、NFARsの核から細胞質への移行が促進し、ウイルス由来mRNAの翻訳抑制、mRNA安定性への寄与や一部mRNAの翻訳促進など、ストレスの種類とターゲットmRNAに応じた翻訳制御を行い、細胞のストレス防御に関与することが報告されている (Harashima et al., 2010; Kuwano et al., 2008; Agca et al., 2015)。以上のように、NFAR1とNFAR2は転写・翻訳制御に広く関わり、発生過程に必須の機能や細胞のストレス防御を担う重要な生体分子である。

#### 4. NFAR1とNFAR2のPrLD依存性細胞内局在制御

上述したように、NFAR1とNFAR2は共通した機能を持つ一方で、核内および細胞質内において異なる局在を示すことが報告されている。核内では、NFAR1とNFAR2の両方が共通して核小体に局在する一方で、核質にはNFAR2のみ存在することが観察されている (Viranaicken et al., 2011; Reichman et al., 2003; Castella et al., 2015)。細胞質では、神経RNA顆粒やストレス顆粒の構成因子であるRNG105が形成するコンデンサートへのNFAR2の局在が観察される一方で、NFAR1は局在を示さない (Shiina and Nakayama, 2014)。NFAR1とNFAR2の違いはPrLDの有無のみであることから、これらの局在の違いはPrLDに由来すると考えられる。注目すべきことに、核質はLLPSによって形成される構造ではないことから、NFAR2特異的な核質への局在は、PrLDのLLPSによらない分子間相互作用を介したものである可能性がある。しかしながら、これらの知見は培養細胞を用いた研究に留まっており、PrLDの有無による細胞内局在の違いが持つ生理的意義は不明である。以上のように、PrLDに由来したNFARsの細胞内局在

の違いがすでに知られており、その局在の違いによる機能的な差異が期待されることから、NFAR2のPrLDを欠損させた変異体を用いた研究は、PrLDの生理的意義を理解するのに良い研究対象であると考えられる。

## 5. 本研究で明らかにしたこと

本研究では、NFAR2 PrLDのマウス生体における生理的な意義を調べるために、PrLDを欠損させた*Ilf3*変異マウス (*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス) を作製した。NFAR2はストレス応答性のRNA結合タンパク質であり、脳での発現レベルが特に高いことから、脳の酸化ストレスレベルを上昇させる慢性ストレスをマウスに負荷した際の影響を調べた (Zafir and Banu, 2009; Schiavone et al., 2013)。顕微鏡を用いた組織学的解析、RNA-seqとribosome profilingを用いた網羅的な転写・翻訳解析、および行動解析を通じて、NFAR2のPrLDが核への局在に重要であること、慢性ストレス依存的なmRNA発現・翻訳調節に重要であること、慢性ストレス下におけるマウスの恐怖条件付け学習の記憶形成・保持に重要であることを明らかにした。以上の結果は、NFAR2のPrLDが、その凝集体形成能とは無関係に、細胞内局在調節能をNFAR2に付与したことによって、環境応答的な機能を獲得したことを示唆している。



## < 材料と方法 >

### 実験動物倫理規定

マウスの飼育および実験は、自然科学研究機構動物実験委員会と富山大学の動物実験委員会に承認され、自然科学研究機構動物実験委員会と富山大学の動物実験委員会の動物実験ガイドラインにしたがって実施した。

### DZFドメインを含むタンパク質の分子系統解析

DZF含有タンパク質のアミノ酸配列は、Ensemble (Cunningham et al., 2022) および SMART (Letunic et al., 2021) から入手した。系統樹は、MEGA 11 (Tamura et al., 2021) を用いて最尤法によって作製した。

### IDRおよびPrLDの解析

IDRの解析は、DISOPRED3 (Jones and Cozzetto, 2015) およびPONDR-FIT (Xue et al., 2010) を使用した。PrLDの解析は、PLAACを使用した (Lancaster et al., 2014)。

### ILF3 PrLD欠損マウスの作製

*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは先行研究で報告された手順をもとに作製した (Isobe et al., 2020)。*Ilf3* 遺伝子のエクソン20の5'-CCCTGTCTAGGTCAGTTCTACAG-3'を標的とするgRNAとCas9 mRNAをmMESSAGE mMACHINE T7 Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) を用いて *in vitro* で転写し、MEGAclear Transcription Clean-Up Kit (Thermo Fisher Scientific) で精製した。ILF3のPrLDをコードするエクソン20の先頭のコドンを終止コドンに置換するために、一本鎖オリゴDNA (ssODN) を合成した。ssODN配列：  
5'-  
CGGCTGCGGGCCAGCCTTCAGGGCCCATGACTGCTCCTTCCTCCCCTCCCAGCCCT  
CACCTGGGACCATCCATCTAATCTGCTGCTTCCCTGTCTAGGTTAGTTCTACAGC  
AATGGAGGGCATTCTGGGAATGCCGGTGGTGGAGGCAGCGGGGGAGGTGGTGGC  
TCATCCAGCTACAGCTCCTACTACCAAGGAGACA-3'。Cas9 mRNA (25 ng/μl)、gRNA (12.5 ng/μl) とssODN (100 ng/μl) を混合し、受精卵へ注入した。ジェノタイプング

は、1塩基置換された *Ilf3* のエクソン20を含む領域を、プライマー 5'-ATCAGCTGAGGGTGAGTGGAGCTG-3' および 5'-TGCAGCGGCTTCTTCCCAGCATGC-3' (PrLD-R) を用いてPCRで増幅し、そのPCR産物をExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific) で処理してプライマーを除去した後、精製したPCR産物からPrLD-Rプライマーを用いてシーケンスを行った。シーケンスしたDNA配列はApEソフトウェア (Davis and Jorgensen, 2022) で視覚化した。

### ILF3欠損マウスの作製

ILF3欠損マウスは、本研究室で以前行った変異マウス作製法 (Nakazawa et al., 2020) をもとに、CRISPR/Cas9システムを用いて作製した。gRNAは、*Ilf3* 遺伝子のエクソン7配列5'-CGTCCCTCCGACACGCCAAG-3'をターゲットとするように設計した。T7プロモーター、gRNAスペーサー (ターゲット配列)、およびgRNA scaffoldを含むgRNA テンプレートDNAは、gBlocks人工遺伝子合成受託サービス (Integrated DNA Technologies, Coralville, IA) で合成し、MEGAscript T7 Transcription Kit (Thermo Fisher Scientific) を使用してgRNAに転写した。gRNAを0.3U/ $\mu$ l Turbo DNase (Thermo Fisher Scientific) で37°Cで15分間処理し、フェノール-クロロホルム抽出とエタノール沈殿によって精製した後、Opti-MEM1 (Thermo Fisher Scientific) に溶解した。

C57BL/6Jマウスの体外受精卵を受精4時間後にウィッテン修飾培地 (mWM) で3回洗浄し、200 ng/ $\mu$ lのCas9タンパク質 (Integrated DNA Technologies) および200 ng/ $\mu$ lのgRNAを含むopti-MEM1で満たされた電極間に静置した。エレクトロポレーションは、Genome Editor (BEX Co. Ltd., Tokyo, Japan) を使用して、25 V (3 msec ON + 97 msec OFF) を3回、電流の方向を交互に変えて行った。受精卵を100 units/mlのペニシリン-ストレプトマイシン (Thermo Fisher Scientific) を含むM2培地 (Sigma-Aldrich, Burlington, MA) で3回洗浄し、mWMで一晩培養した。翌日、生き残った2細胞期の受精卵を偽妊娠マウスの卵管に移植した。

CRISPR/Cas9による*Ilf3* 遺伝子の変異を特定するために、gRNAターゲット配列を含むゲノム領域をプライマー 5'-GAGCTGATGGCACTTTAGCC-3' (exon7-F) と 5'-AGTCTCCTCAGGGCTGTCAA-3'を用いたPCRによって増幅した。1  $\mu$ lのPCR産物を11.3  $\mu$ lの水で希釈し、0.2  $\mu$ lのExoSAP-ITで処理してプライマーを除去した後、精製し

たPCR産物からexon7-Fプライマーを用いてシーケンスを行った。ヌクレオチドの挿入と削除を確認するために、DNA配列をApEソフトウェアで可視化した。14塩基欠失した*Ilf3* 対立遺伝子を持つ *Ilf3*<sup>+/-</sup> マウスのジェノタイピングは、プライマー5'-TTCTGTGGTTTAAATTTGGGAGAGG-3' と 5'-AAATGCAAACCTTGGCGGAG-3' を用いたPCRによって行った。

### 拘束水浸ストレス (water-immersion restraint stress, WIRS)

マウスは、約23±2°C、明期12時間・暗期12時間の明暗条件下で、野生型と変異型を同一のケージ (1または2ペア/ケージ) で飼育した。ストレス群のマウスを、呼吸用の穴を開けた50 mLファルコンチューブに入れ、明期中に1日3時間を14日間、鼻が沈まない程度の水に浸した。ストレス群とコントロール群間の相互作用による影響を回避するために、コントロール群のマウスは、ストレス群とは別のホームケージに入れた。コントロール群のマウスは、WIRS曝露期間中、ホームケージに留めた。WIRSの直前に両群のマウスの体重を毎日測定した。

### 定量的RT-PCR (RT-qPCR)

成体の *Ilf3*<sup>+/+</sup> マウスと *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの各脳領域を摘出後、ISOGEN (Nippon Gene, Tokyo, Japan) を用いて、標準プロトコールにしたがってトータルRNAを抽出した。この抽出液から、M-MLV-Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific) を用いた逆転写によってcDNAを作製した。qPCRはTB Green Premix Ex Taq II (Tli RNaseH Plus) (Takara Bio, Shiga, Japan) を用いて、7500 real-time PCR system (Thermo Fisher Scientific) の標準プロトコールにしたがって行った。各遺伝子の発現量は、野生型コントロール群のサンプルを用いた検量曲線法によって定量した。使用したプライマー配列は以下の通りである。NFARs (NFAR2 と NFAR1 共通) は 5'-AGACAGGCCCTGTTTCATGCT-3' と 5'-TTGGCAAGCCCATGTCCTGT-3'; NFAR2は5'-ACGCTTTGAGGTGTGGTGGT-3' と 5'-AACGGCAAGACCTCGGAACA-3'; NFAR1は5'-TCTACACTGCCTGGCACACA-3' と 5'-AGGGGCAGTTCTGCAGCAAA-3'; GAPDHは5'-AACGACCCCTTCATTGACCT-3' と 5'-TGGAAGATGGTGATGGGCTT-3'; Hba-a1 は5'-CGATGCTCTGGCCAATGCTG-3' と 5'-GCTAGCCAAGGTCACCAGCA-3'; mt-Atp8は5'-

ACATTCCCCTGGCACC-3' and 5'-GGGGTAATGAATGAGGC-3' ; mt-Nd3 は 5'-GCATTCTGACTCCCCCAAAT-3' and 5'-TGAATTGCTCATGGTAGTGGA-3' ; mt-Nd6は 5'-GTATTGGGGGTGATTATAGAG-3' と 5'-CCATCATTCAAGTAGCACAAC-3' ; Tubb5 は 5'-ACTATGGACTCCGTTTCGCTCAG-3' と 5'-ACAGAGTCAACCAACTCAGCTCC-3' ; Sgk1 は 5'-GGTGCCAAGGATGACTTTTATGGA-3' と 5'-GGTAAACTCGGGATCGAAGTGC-3'。

### ウェスタンブロッティング

成体の *Ilf3*<sup>+/+</sup> マウスと *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの各組織を摘出し、Laemmli サンプルバッファーを添加、ホモジナイズとソニケーションによって作製したタンパク質抽出液を5分間煮沸処理した。これをSDSポリアクリルアミドゲルで泳動した後、フッ化ポリビニリデン (PVDF) 膜 (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) に転写した。このPVDF膜を、抗ILF3ラビットモノクローナル抗体 (ab92355, Abcam, Cambridge, UK)、抗ILF3ラビットポリクローナル抗体 (19887-1-AP, Proteintech, Chicago, IL)、抗 $\alpha$ -tubulinラビットポリクローナル抗体 (PM054, Medical & Biological Laboratories, Nagoya, Japan) を用いて反応させた。ビオチン標識二次抗体 (Cytiva, Marlborough, MA) とストレプトアビジン結合アルカリフォスファターゼ (Cytiva) を反応させ、ブROMOKROロインドリルリン酸塩/塩化ニトロブルーテトラゾリウムを用いて検出した。遺伝子型間での定量比較は、同じPVDF膜上の野生型マウスの各組織由来タンパク質抽出液による標準希釈系列を用いて作成した標準曲線を使用して行った (Ohashi et al., 2016)。NFAR2/NFAR1バンドの濃度比は、ImageJソフトウェア (Schneider et al., 2012) を用いて、同一レーン上のNFAR2とNFAR1バンドの濃度を測定することによって算出した。

### 組織抗体染色

成体マウスの全脳を摘出し、Tissue-Tek O.C.T Compound (Sakura Finetek, Tokyo, Japan) に包埋して液体窒素で凍結させた後、クライオスタット (Leica CM1950, Leica, Wetzlar, Germany) を用いてILF3、TDP43、hnRNP A1染色用に12  $\mu$ m、c-Fos染色用に30  $\mu$ mの厚さにスライスした。切片をシランコーティングしたカバーガラスに貼り付け、室温で乾燥させた。切片をphosphate-buffered saline (PBS) で希釈した3.7%ホルマリン

に10分間浸して固定し、PBSで3回洗浄した後、ブロッキングバッファー（10% fetal bovine serum (FBS)、 0.1% Triton X-100、 PBSで希釈）に1時間室温で浸してブロッキングした。一次抗体を含んだブロッキングバッファーにサンプルを浸し、4°Cで一晩インキュベートした。一次抗体には、抗ILF3ラビットモノクローナル抗体（Abcam）、抗TDP-43ラビットポリクローナル抗体（10782-2-AP, Proteintech, Rosemont, IL）、抗hnRNP A1ラビットモノクローナル抗体（#8443, Cell Signaling Technology, Danvers, MA）、抗c-Fosラビットモノクローナル抗体（#2250, Cell Signaling Technology）を使用した。インキュベート後、PBSで洗浄し、Alexa488標識抗ラビットIgG抗体（Thermo Fisher Scientific）と4',6-diamidino-2-phenylindole（DAPI）（FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan）を含んだブロッキングバッファーにサンプルを浸して、4°Cで一晩反応させた。サンプルをPBSで洗浄し、Mowiol（Sigma-Aldrich）でスライドグラスにマウントした。蛍光画像は、倒立型A1共焦点レーザー顕微鏡（Nikon, Tokyo, Japan）を用いて撮影した。対物レンズは、c-Fos染色では20倍、それ以外は60倍を使用した。

取得した蛍光画像はImageJ/Fijiソフトウェア（Schindelin et al., 2012）を用いて解析した。NFARsの蛍光強度の核-細胞質比の計測では、画像をバックグラウンド減算と平均フィルタリング処理を行った後、ROIマネージャーを使用して細胞全体と核の蛍光強度を計測し、細胞全体の蛍光強度から核の蛍光強度を引くことによって、細胞質の蛍光強度を算出した。核-細胞質比は、核内の1ピクセルあたりの平均蛍光強度を細胞質内の1ピクセルあたりの平均蛍光強度で割ることによって算出した。c-Fos陽性細胞の計測は、画像をzスタックし（連続画像は1  $\mu\text{m}$ ステップで取得）、ImageJ/Fijiソフトウェアに実装されている画像の自動二値化アルゴリズムの一つである「Triangle」を使用して二値化を行い、「Analyze particles」を用いてサイズが30~200ピクセルの粒子数（c-Fos陽性細胞数）を計測した。複数の細胞が画像上で重なったために1つとカウントされたものは、手動でカウントし直した。DAPIで染色された核と重ならなかった粒子はノイズとしてカウントしなかった。

## 核内NFARs顆粒の定量

Peristaltic pump (MP-2000, Tokyo Rikakikai, Tokyo, Japan) を用いて、PBSと3.7%ホルマリンによってマウスの灌流固定を行った後、脳を摘出、3.7%ホルマリンに4°Cで一晩浸して後固定を行った。ビブラトーム (VT1200S, Leica, Germany) で50  $\mu\text{m}$ の冠状切片を作製し、免疫染色は前述の方法と同様に行った。蛍光画像は倒立型A1共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon, Tokyo, Japan) を用いて、1  $\mu\text{m}$ ステップで連続的に撮影した。対物レンズは60倍を使用した。核内のNFARs顆粒の数とサイズの定量化は、ImageJ/Fijiソフトウェアを用いて行った。定量化には、核が最大直径となる画像を中心に前後2枚ずつの計5枚の連続した画像を用いた。連続画像を重ねた際に重なった顆粒は同一顆粒と判断した。同一顆粒として判断された場合の顆粒サイズは、連続する画像内で顆粒サイズが最大となる画像を用いて測定した。

### AMY由来神経初代培養細胞を用いた神経突起形成の解析

胎生16-18日目 (E16-18) の同腹仔マウス (*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3* <sup>$\Delta\text{PrLD}/\Delta\text{PrLD}$</sup> マウス) のAMYから神経初代培養細胞を作製した。AMYから採取した神経細胞はpoly-D-lysineでコーティングしたカバーガラス上に $5.2 \times 10^3$  cells/cm<sup>2</sup>の濃度で蒔いた。細胞は、培地中 [B-27 supplement (Thermo Fisher Scientific)、Neurobasal Medium (Thermo Fisher Scientific)、0.5 mM グルタミン、25% Neuron culture medium (FUJIFILM Wako Pure Chemical) ] で5% CO<sub>2</sub>、37 °C条件下で培養し、3、5、7 days *in vitro* (DIV) で3.7% formaldehydeを含んだPBSで10分間固定した。

免疫染色は前述の方法と同様に行った。一次抗体は、抗MAP2ラビットポリクローナル抗体 (ab32454, Abcam) と抗Tau-1マウスモノクローナル抗体 (MAB3420, Sigma-Aldrich) を使用した。二次抗体は、Alexa488標識抗ラビットIgG抗体 (Thermo Fisher Scientific) とCy3標識抗マウスIgG抗体 (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) を使用した。蛍光画像は、倒立型A1共焦点レーザー顕微鏡 (Nikon) を用いて撮影した。DIV3、5は20倍、DIV7は60倍の対物レンズを使用した。連続画像は0.5  $\mu\text{m}$ ステップで取得し、zスタックした。Sholl analysisを行うために、核 (DAPI染色) を中心に30  $\mu\text{m}$ 間隔で同心円を描き、それぞれの円と交差した神経突起の数を計測した。最もTau染色の強度が高かった一本の神経突起を軸索とした。

## RNA-seqとribosome profiling

ストレス群のマウスは、1日3時間、14日間WIRSに曝した。コントロール群とストレス群のマウスからそれぞれ脳扁桃領域を摘出し、液体窒素で瞬間凍結した。サンプルを氷冷したlysis buffer (20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 150 mM NaCl, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM DTT, 100 µg/ml cycloheximide, 100 µg/ml chloramphenicol, 1% Triton X-100) に入れ、beads shocker (Yasui Kikai, Osaka, Japan) を用いて溶解した。ライセートを25 U/ml Turbo DNase (Thermo Fisher Scientific) に氷上で10分間反応させ、4°C、20,000 gで10分間遠心分離した。ライセートのRNA濃度はQubit RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いて測定した。ライセートはRNA-seqとribosome profilingで使用するために、2つに分割した。

RNA-seqでは、500 ngのRNAを含むライセートからTRIzol reagent (Thermo Fisher Scientific) を用いてトータルRNAを抽出した。Ribo-Zero Gold rRNA Removal Kit (Human/Mouse/Rat) (Illumina, San Diego, CA) を用いてrRNAを除去した。cDNAライブラリはTruSeq Stranded mRNA Library Prep Kit (Illumina) を用いて作製した。

Ribosome profilingでは、1.5 µgのRNAを含むライセートを3UのRNase I (Lucigen, Middleton, WI) で25°C、45分間処理した後、10 µl SUPERase In (Thermo Fisher Scientific) の添加によってヌクレアーゼ消化を停止させた。サンプルを1M sucrose cushion上に重層し、TLA-110 rotor (Beckman Coulter, Brea, CA) で4°C、100,000 rpmで1時間遠心分離することによってリボソームを沈殿させた。Direct-zol RNA MicroPrep Kit (Zymo Research, Irvine, CA) を用いてリボソームに結合したRNAを分離し、ゲル電気泳動で17~34 ntに相当するRNA断片を抽出した。RNA断片をpreadenylated linkerに結合させた後、Ribo-Zero Gold rRNA Removal Kit (Human/Mouse/Rat) (Illumina) を用いてrRNAを除去した。ProtoScriptII (New England Biolabs, Ipswich, MA)を用いて、50°C、30分間インキュベートすることで逆転写し、得られたcDNAをCircLigase II (Lucigen)によって環状化、PCRで増幅させた。

RNA-seqとribosome profilingのライブラリはHiSeq4000 (Illumina)でシーケンスした。Read quality filteringとadapter trimmingはfastp (Chen et al., 2018) を使用して実行した。noncoding RNAのリードの除去後、残りのリードをGRCm38/mm10マウスゲノムにアラインした。Ribosome profilingでは、フットプリントの5'末端からのAサイトのオフ

セットはそれぞれ、*If3*<sup>+/+</sup>マウスと*If3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの28~31 ntでは15、32~33 ntでは16、*If3*<sup>+/+</sup>マウスのミトコンドリアゲノム由来のフットプリントの21~28 ntでは14、29-33 ntでは15、34 ntでは16、*If3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのミトコンドリアゲノム由来のフットプリントの22 ntでは13、21と23-29と31 ntでは14、30と32-34 ntでは15とした。RNA-seqでは、全てのmRNA断片に15のオフセットを使用した。GENCODE VM23のgene annotationとtranscriptsを使用した。RNA-seqとribosome profilingの結果を用いた発現比較解析および翻訳効率の算出は、DESeq2パッケージ (Love et al., 2014) を用いて実行した。統計的有意性は、一般化線形モデルの尤度比検定を用いて計算した。各群4匹のマウスからそれぞれ得られた2つのレプリケートを解析した (各レプリケートは2匹のマウスのサンプルから構成)。

### 遺伝子オントロジー解析 (GO解析)

GO解析はDAVID Bioinformatics Resources (Sherman et al., 2022) を用いて行った。GOTERM\_BP\_DIRECTとKEGG\_PATHWAYに分類されるものを使用し、Benjamini-Hochberg false discovery rate (FDR)で0.05以下のものを有意なGO termとした。

### 網羅的行動解析

オスの*If3*<sup>+/+</sup>マウスと*If3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの同腹仔を、12時間の明暗サイクル下で、4匹ずつ同一ケージで飼育した (各遺伝子型マウス2匹ずつ/ケージ)。餌と水は十分量与えた。行動解析は11週齢から、体重、体温、筋力測定をした後、明暗選択テスト、オープンフィールドテスト、高架式十字型迷路、ホットプレートテスト、新奇環境における社会的行動テスト、ロータロッドテスト、3チャンバー社会的な新奇探索性テスト (100ルクス)、驚愕反応とプレパルス抑制テスト、ポーソルト強制水泳テスト、バーンズ迷路、T迷路、恐怖条件付けテスト、3チャンバー社会的な新奇探索性テスト (5ルクス)、ホームケージでの社会的行動テスト、および尾懸垂テストの順で行った (表 26)。全ての実験装置は、嗅覚による影響を防ぐために、各個体の実験終了毎に次亜塩素酸溶液または70%エタノールで洗浄した。

### 体重、体温、筋力測定



マウスをステンレス製のボールに置き、体重を測定した。直腸温を体温として測定した。筋力は、握力とワイヤーハングテストによって測定した。握力計（O'Hara & Co., Tokyo, Japan）を用いて、マウス前肢の握力を測定した。具体的には、マウスの尻尾を持って前足にワイヤーグリッドを掴ませた後、マウスがワイヤーグリッドを離すまでマウスの尾を静かに引っ張った。これを3回行い、これらの中で得られた最大値を記録した。ワイヤーハングテストでは、上面に網目状に金網（10 × 10 cm）が貼られたボックス（22 × 22 × 30 cm）（O'Hara & Co.）を用いた。マウスを金網上に乗せ、ゆっくりと上面を反転させ、マウスがワイヤーを握ってぶら下がった状態にし、マウスが手を離して落下するまでの時間を測定した（60秒上限）。

### 明暗選択テスト

先行研究の方法にしたがって実施した（Takao and Miyakawa, 2006）。マウスを暗室に置き、3秒後にドアを開けた後、マウスは10分間、暗室と明室間を自由に移動できた。明暗室間の移動回数、最初に明室に入るまでの時間、各部屋に滞在した時間、移動距離を、ImageLD（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を使用して記録した。

### オープンフィールドテスト

マウスを100ルクスで照らされたオープンフィールド装置（40 × 40 × 30 cm; AccuScan Instruments, Columbus, OH）に静置し、VersaMax system（AccuScan Instruments）を用いて、移動距離、立ち上がり回数（フォトビームを遮った回数）、フィールド中央区域の滞在時間を120分間に渡って測定した。

### 高架式十字型迷路

先行研究の方法にしたがって実施した（Komada et al., 2008）。壁のない2つのアーム（オープンアーム、25 × 5 cm）と、透明な壁（高さ15 cm）を持つ同じサイズのアーム（クローズアーム）およびそれらアームが十字に接続した中央の正方形（5 × 5 cm）で構成され（同じタイプのアームはそれぞれ正方形の反対側に接続）、これらが床から55 cmの高さになるように設置した装置（O'Hara & Co., Tokyo, Japan）の中央の正方

形領域にマウスを静置し、迷路を10分間自由に探索行動させた。ImageEP（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて、アームへのエントリ回数、オープンアームへのエントリ割合、移動距離、オープンアームに滞在した時間の割合を計測した。

### ホットプレートテスト

マウスを $55.0 \pm 0.3$  °Cに温めたホットプレート（Columbus Instruments, Columbus, OH）上に静置し、前脚を最初にホットプレートから離して擦り合わせるか舐めるまでの時間を計測した。

### 新奇環境における社会的行動テスト

先行研究の方法にしたがって実施した（Shoji et al., 2016）。異なるケージで飼育され、かつ体重がほぼ同一（差が2 g以内）の同一遺伝子型の2匹のマウスを、新奇の箱（40×40×30 cm）に一緒に入れ、10分間自由に行動させた。ImageSI（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて、接触回数、接触時間、一回の接触あたりの持続時間、移動距離を測定した。

### ロータロッドテスト

加速ロータロッド（UGO Basile, Varese, Italy）を用いて、歩行運動の異常の有無を調べた。マウスを直径3 cmの棒の上に乗せ、これを回転させた。ロータロッドの回転速度は4 rpmから40 rpmまで5分間で加速し、この間にマウスが棒から落下するまでの時間を計測した。

### 3チャンバー社会的な新奇探索性テスト

先行研究の方法にしたがって実施した（Moy et al., 2004; Fujii et al., 2019）。ここで使用した装置は、長方形の3部屋（各部屋20×40×47 cm）とビデオカメラ（O'Hara & Co.）を備えた蓋で構成され、実験時は100ルクスまたは5ルクスで照らした。部屋間は透明なプレキシガラス製で遮られているが、マウスはこの壁に開いた5×3 cmの穴を通じて部屋間を自由に移動できた。最初にマウスを3分間探索させて、装置に慣れさ

せた。この時、空のワイヤーケージ（直径9 cm、高さ11 cm、垂直なワイヤーが0.5 cm 間隔で並ぶ）を左右の各部屋の外側の角に置いた。テストセッションでは、実験マウスとこれまで接触したことのないオスマウス（新奇1）を左右どちらかの部屋のワイヤーケージに入れ、もう一方には空のワイヤーケージを置いた。左右どちらに新奇マウスを入れるかは、試行間で交互となるようにした。実験マウスを中央の部屋に入れ、10分間自由に行動させた。次のセッションでは、新奇1とは異なる新たな新奇マウス（新奇2）を前セッションで空だったワイヤーケージに新たに入れて、実験マウスを中央の箱に置いて10分間自由に行動させた。したがってセッション2では、実験マウスは既知の新奇1マウスと見知らぬ新奇2マウスの両方にアプローチできた。ImageCSI（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて、ビデオ画像から実験マウスが各ワイヤーケージの周囲に滞在した時間を計測した。

### 驚愕反応とプレパルス抑制テスト

驚愕反射測定システム（O'Hara & Co）を用いて、先行研究の方法にしたがって実施した（Matsuo et al., 2010）。マウスを、試験直前に装置に慣れさせるために、実験で使用するプレキシガラス製のシリンダーに入れて10分間静置した。測定では、驚愕刺激として110または120 dBのホワイトノイズを40ミリ秒間提示した。バックグラウンドのノイズは70 dBとした。プレパルス（74または78 dB）は驚愕刺激の100ミリ秒前に提示した。テストは2種類の驚愕反応のみのトライアル（110と120 dB）と4種類のプレパルス抑制トライアル（74-110, 78-110, 74-120, 78-120 dB）の計6つの連続したトライアルで構成され、各トライアル間のインターバルは平均15秒（10～20秒）とした。プレパルス刺激の提示から140ミリ秒間の驚愕反応をミリ秒毎に記録し、そのピークを従属変数として使用した。

### ポーソルト強制水泳テスト

ポーソルト強制水泳テストは、うつ病関連の行動を評価するために、先行研究にしたがって実施した（Porsolt et al., 1977）。マウスを、高さ7.5 cmまで水（23°C）で満たされたプレキシガラスシリンダー（高さ20 cm、直径10 cm、O'Hara & Co.）に、1日10

分間、2日間連続で入れた。テスト中の不動の時間の割合を、ImagePS（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて計測した。

### **バーンズ迷路**

先行研究にしたがって実施した（Takao et al., 2010）。円盤（直径100 cm、床から75 cmの高さ）に開いた12個のうち、ターゲットとした穴の下にエスケープボックスを設置した。12回のトライアルでマウスを訓練し、最後のトライアルの24時間後に、エスケープボックスなしでプローブテスト（PT1）を行った。PT1の1ヶ月後、さらにプローブテスト（PT2）を行って記憶の保持を調べた。その後、これまでと同じ穴にエスケープボックスを設置した上で、追加で6回トライアルを行った。次に行った逆転学習では、エスケープボックスの設置位置を、これまでの穴と対極の位置（180度反対側）へと変更し、さらに6回トライアルを行った。最後の逆転学習のトライアルの24時間後に、エスケープボックスを取り除いてプローブテスト（PT3）を行った。プローブテストでは、ImageBM（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いてマウスの各穴の周囲の滞在時間を計測した。

### **T迷路**

自動化したT迷路装置（O'Hara & Co）を用いて、先行研究にしたがって自発的交替課題を行った（Shoji et al., 2012）。マウスを自由に1セッション10周させ、これを合計5回行った。マウスが直前のラップと反対の方向を選択すると、これを「正解」とした。データ取得と解析はImageTM（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いた。

### **恐怖条件付けテスト（文脈、手がかり学習）**

先行研究にしたがって実施した（Shoji et al., 2014）。金属製の網が床に敷かれたテストチャンバーにマウスを入れた。条件刺激（CS）として55 dBのホワイトノイズを30秒間提示し、ホワイトノイズの最後の2秒間に非条件刺激（US）として0.3 mAのフットショックにマウスを曝した。条件付けセッションでは、これを2分間隔で3回行った。条件付けの24時間後と1ヶ月後に、文脈（場所）テストと文脈を変えた手がかり

(音) テストを行った。文脈テストでは、条件付けセッションで使用したのと同じテストチャンバーにマウスを入れて、5分間記録した。手がかりテストでは、マウスを条件付けセッションとは異なる新奇のチャンバーに6分間入れた。前半の3分間はCSとUSどちらも提示せず、後半の3分間ではCSのみを提示した。それぞれのセッションにおけるマウスのすくみ反応を、ImageFZ（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて計測した。

### ホームケージでの社会的行動テスト

先行研究の方法にしたがって行った (Takao et al., 2010)。別々のケージで飼育されていた同じ遺伝子型のマウス2匹を、一つのホームケージに入れた。2匹の社会的相互作用と活動量を7日間に渡って記録した。社会的相互作用は、画像データの各フレームで、検出された粒子の数を数えることで測定した。具体的には、粒子が2つの場合はマウスが互いに離れていることを示し、1つの場合は互いに接触していることを示す。データ取得と解析は、ImageHCSI（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて行った。

### 尾懸垂テスト

マウスのうつ病関連行動を評価するために尾懸垂テストを行った。マウスの尻尾を床から30 cmの高さに設置した天井に粘着テープで貼り付けることで、マウスを10分間宙吊りにし、テスト中の不動時間の割合を測定した。データ取得と解析は、ImagePS（「網羅的行動解析におけるデータ解析」の項参照）を用いて行った。

### 網羅的行動解析におけるデータ解析

行動データは、NIH ImageプログラムとImageJプログラムに基づいたアプリケーション [ImageLD、ImageBM、ImageFZ、ImageEP、ImagePS、ImageTS、ImageSI、ImageCSI、ImageHCSI、ImageTM、宮川剛博士 (O'Hara & Co) により各テストに合わせて改変されたもの] によって取得・解析した。データはStudent's t-test、one-way ANOVA、two-way repeated measures ANOVAを用いて統計解析を行った。グラフの値は、平均±SEMで表した。棒グラフでは、個々の測定値をドットプロットで表示した。網羅的行動解

析で取得した生データは gene-brain-phenotyping database (<http://www.mouse-phenotype.org/>) で公開されている。

## モリス水迷路

先行研究の方法にしたがって実施した (Nakayama et al., 2017)。直径110 cmの丸いプールを、毒性のない白色塗料 (Sakura Color Products, Osaka, Japan) で色づけした水で満たし、この水面下に透明なプラットフォーム (6 cm直径) を設置した。プールの壁には、空間的な手がかりとして四方に計4つの異なる平面図を提示した。マウスをプールに入れ、泳いで足場となるプラットフォームに辿り着くまでの時間を測定した。マウスが2分間制限時間内にプラットフォームにたどり着いた場合、30秒間プラットフォームに留まった後、ホームケージに戻した。制限時間内にプラットフォームに辿り着かなかった場合は、マウスをプラットフォーム上に誘導し、30秒間プラットフォーム上に留めた後に、ホームケージに戻した。マウスをプールに入れる位置はトライアルごとに変更したが、プラットフォームの位置は、トレーニングセッション中は同一の場所に固定した。トレーニングセッションでは、1日あたり6トライアルを7日間に渡って行った。トレーニングセッションの最後のトライアルから24時間後、プラットフォームを取り除いてプローブテストを行った。マウスは1分間自由に遊泳し、その遊泳経路をANY-Maze (Stoeling, Wood Dale, IL)を用いたビデオトラッキングシステムによって記録した。トレーニングセッションでプラットフォームが置かれていたターゲット象限とその他の象限に滞在した時間を計測した。データはR (R Core Team, 2020) を使って、three-way repeated measures ANOVAで統計解析を行った。

## 恐怖条件付け学習 (受動的回避)

受動的回避テストはSCANET system (Melquest, Toyama, Japan) を搭載したLDK-M chamber (Melquest) を用いて実施した。トレーニングセッションの前日、マウスをテスト環境に慣らすために、ドアを開けた状態で10分間明室と暗室の両方を自由に探索させた。トレーニングセッションでは、まずマウスを明室に入れた後に、ドアを開けて明室と暗室を自由に10分間行動させた。この時、最初の5分間 (Pre) で、暗室に滞在した時間と全体の移動距離を計測した。次に、マウスが暗室に入ったときにドアを

閉め、マウスにフットショック（1.5 mAを2秒間、1分間隔で4回）を与え、マウスをホームケージに戻した。フットショックから5分後、1日後、1週間後にマウスを明室に戻し、ドアを開けてから5分間自由に行動させた。この間の、マウスの暗室滞在時間および全体の移動距離を測定した。データはRを使って、three-way repeated measures ANOVAで解析し、交互作用について有意だったものについては、続いてsimple effect analysisを行った。

### **定量と統計解析**

サンプル数と実験の繰り返し条件は図または図の説明文中に示した。統計的有意性はRを用いて、log-rank test、three-way repeated measures ANOVA、two-way repeated measures ANOVA、two-way ANOVA、simple effect analysis、one-way ANOVA、Welch's t-test、Tukey-Kramer testで分析した。棒グラフでは、個々の測定値はドットプロットとして示した。行動テストでは、各実験の終了前に死亡した、もしくは外れ値のデータを示したマウスのデータは解析から除外した。

### **Accession Number**

この研究で得られたRNA-seqとribosome profilingの生データ（GSE209902）は、National Center for Biotechnology Information（NCBI）で公開されている。

## <結果>

### 1. DZFファミリータンパク質の中で200アミノ酸以上の長いPrLDを持つものはNFAR2のみである

NFARs (NFAR2とNFAR1) は、DZFドメイン (domain associated with zinc fingers) を含んだ後生動物特異的なタンパク質ファミリーに属す。このファミリーは、ILF3 (NFARs)、interleukin enhancer-binding factor 2 (ILF2)、zinc-finger protein associated with RNA (ZFR)、ZFR2、spermatid perinuclear RNA-binding protein (SPNR、別名STRBP) から成る。これらのタンパク質のうちZFR2、STRBP、NFARsは脊椎動物特異的なタンパク質である (図3A)。これらDZFファミリータンパク質の中で、200アミノ酸を越える長いPrLDを持つものはNFAR2のみである (図3A, 3B)。100-200アミノ酸程度のPrLDは魚類と爬虫類のZFR2にも存在するが、哺乳類ではその領域は非PrLDのIDRとなっている。これらの事実は、PrLDが種特異的かつタンパク質特異的に挿入されたことを示唆している。特に、NFARsと高い相同性を持つパラログSTRBPは、NFAR2のような長いPrLDを持っていないにもかかわらず、NFARsと同様に脳や精子機能に重要な働きを持つ (Pires-daSilva et al., 2001) (図3A, 3B)。以上のDZFファミリータンパク質におけるパラログ及びアイソフォームの比較から、NFAR2特異的な長いPrLDを対象に、その生理的意義を調べることにした。

### 2. NFAR2のPrLD欠損マウス (*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス) の作製

NFAR2のPrLDが持つ生理的意義を調べるために、NFAR2のPrLDのみを欠損させた *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスを作製した。NFAR1とNFAR2はエクソン18までは共通であり、NFAR1はエクソン19に終止コドンがあるのに対して、NFAR2はエクソン19をスキップしてエクソン20-22で構成されている (図4A)。このエクソン20-22がNFAR2特異的なアミノ酸配列 (702-911) をコードしている (図4A)。NFAR1とNFAR2のPrLD予測解析を行ったところ、NFAR1ではPrLDとして予測されたC末端領域は671-698とわずかに28残基だったのに対して、NFAR2特異的なC末端アミノ酸残基 (702-911) は200残基を超える長いPrLDとして予測された (図4C)。そこで、NFAR2からPrLDを削除するために、CRISPR/Cas9を使用してコーディングDNA2104番塩基C→Tの置換によって



エクソン20の先頭（5'末端）に終止コドンを挿入し、変異マウスを作製した（図4A、4B）。置換によって新たに終止コドンのできた変異NFAR2 mRNAは、ナンセンス変異依存mRNA分解機構（NMD）により分解されると考えられた（Lykke-Andersen and Jensen, 2015）。実際、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスと野生型（*Ilf3*<sup>+/+</sup>）マウスのNFAR2 mRNA量をRT-qPCRによって比較したところ、変異マウスではNFAR2 mRNA量が野生型の半分程度まで減少していた（図4D）。

次に、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおけるNFARsタンパク質の発現量を、NFAR2とNFAR1の両方を認識する抗ILF3モノクローナル抗体を用いたウェスタンブロットによって調べた。野生型マウスでは、NFAR1とNFAR2にそれぞれ対応する90 kDaと110 kDaの2つのバンドが、調べた全ての組織で検出された（図4H）。一方、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは110 kDaのバンドは全ての組織で検出されなかった（図4H）。ただし、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは、90 kDaのバンド強度が*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスに比べて1~2倍程度ほぼ全ての組織で増加していた（図4H）。これは、分解されなかった変異NFAR2 mRNAから合成されたNFAR2<sup>ΔPrLD</sup>とNFAR1が同じバンドとして検出された可能性や、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは、原因は不明だがNFAR1 mRNAが増加しており（図4E）、それによりNFAR1タンパク質が増加した可能性が考えられた。

先行研究によって、*Ilf3*ノックアウトマウス（NFAR1とNFAR2の両方が欠損したマウス）は呼吸不全のために周産期に致死となることが示されているが（Shi et al., 2005）、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと比較して生存率の有意な低下は見られず、1年以上生存できた（図4J）。これは、NFAR2のPrLDが生存に必須の機能を持ってはいないことを示している。NFAR1はマウスの全身で高い発現を示すのに対して、NFAR2は脳など特定の組織でNFAR1よりも発現が優勢になることが、先行研究（Shi et al., 2005）および本研究で示された（図4I）。したがってNFAR2のPrLD欠損は、脳機能に特に影響を与えると考えられた。そこで本研究では、NFARsの細胞内局在、転写・翻訳制御、およびマウスの行動にNFAR2のPrLD欠損が及ぼす影響を調べた。NFAR2は細胞ストレスに応じて細胞内局在を変化させ、転写・翻訳制御に関わることから、マウス脳で酸化ストレスを亢進させることが知られている慢性ストレス負荷による影響に着目することとした。特に、慢性ストレスに対して感受性が高く、慢性ストレスによる酸

化ストレスの上昇が知られている脳領域である扁桃体（amygdala, AMY）と海馬（hippocampus, HIP）に着目した（Zafir and Banu, 2009; Schiavone et al., 2013）。

### 3. NFAR2のPrLD欠損による核内NFARs含有顆粒に対する影響

AMYおよび背側海馬（dorsal HIP, dHIP）を含む切片と、腹側海馬（ventral HIP, vHIP）を含む切片をそれぞれ作製し、NFAR2とNFAR1の両方を認識するILF3抗体を用いた免疫染色によって、AMYとHIPにおけるNFARsの細胞内局在を調べた（図5A）。先行研究でNFAR2とNFAR1はどちらも核内で顆粒を形成することが報告されており（Jia et al., 2019）、実際に本研究でも*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス両者のAMYとHIPの両脳領域で顆粒が観察されたことから（図5B-5E）、NFARsの核内顆粒形成にNFAR2のPrLDは必須でないことがわかった。観察された顆粒の数およびサイズを*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス間で比較したところ、顆粒サイズに有意な差は見られなかったが、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおける顆粒数の減少が見られた（図5F-5K）。

次に、慢性ストレス負荷時のNFARsの核内顆粒形成の変化の有無を調べた。慢性ストレスとして、毎日3時間の拘束水浸ストレス（water-immersion restraint stress, WIRS）を14日間に渡ってマウスに負荷した（図5A）。このWIRSによって、慢性ストレス負荷時の特徴の一つである体重減少が観察された（図19B）。WIRS負荷時の核内NFARs含有顆粒の数とサイズを調べたところ、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのどちらも数とサイズともにWIRSによる有意な変化は認められなかった（図5F-5K）。

NFAR1は核内顆粒に主に局在するのに対して、NFAR2は核内顆粒だけでなく核質にも局在することが報告されている（Jia et al., 2019; Viranaicken et al., 2011; Castella et al., 2015）。実際、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでは核質にILF3抗体染色シグナルが見られるのに対して、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではそれが減少していることが観察された（図5B）。そこで次に、NFARsの核と細胞質との抗体染色シグナル比に対するWIRSの影響を*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス間で比較することにした。

### 4. NFAR2のPrLDはAMYにおける慢性ストレス感受性の核局在を担う

まず、コントロール条件下での核と細胞質のNFARsシグナル比を調べた。AMYとHIPにおいて、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのどちらもNFARsは細胞質よりも核

に濃縮していたが、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは核/細胞質の存在比が*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスに比べて著しく減少していた（図6A-6F）。

次に、WIRS負荷によるNFARsの細胞内局在変化を調べた。*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでは、WIRSによるdHIPとvHIPにおけるNFARsの細胞内局在への有意な影響は見られなかったが（図6D、6E）、AMYにおいてはNFARsの核/細胞質比を有意に減少させた（図6F）。先に述べたように、WIRSによってNFARs含有顆粒には影響がなかったことから（図5C-5K）、この核/細胞質比の減少は核質へのNFARsの局在低下が原因であると考えられた。対照的に*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは、dHIPとvHIPだけでなく、AMYにおいてもWIRSによるNFARsの核/細胞質比の減少が見られなかった（図6D-6F）。これは、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではコントロール条件下（WIRS無し）で既にNFARsの核局在が減少していることが原因であると考えられる（図6C、6F）。

次に、NFAR2が示したAMYにおけるWIRS感受性の核局在性がNFAR2特異的な性質なのか、もしくはPrLD含有タンパク質に共通した性質であるのかを調べることにした。そこで、PrLD含有タンパク質TDP-43とhnRNP A1に対する免疫染色法を用いて、これらタンパク質がAMYにおけるWIRS感受性の核局在性を持つかを調べたところ、TDP-43とhnRNP A1はどちらも細胞質に比べて核への局在性を示すが、NFAR2とは異なりWIRS依存的な局在変化は示さなかった（図7A-7D）。先行研究によって、TDP-43とhnRNP A1は浸透圧ストレス依存的に核から細胞質への移行を示す一方で、酸化ストレスではあまり示さないことが報告されている（Lee et al., 2021; Allemand et al., 2005）。以上の結果および先行研究から、PrLD含有タンパク質は共通してストレス感受性の核局在を示すが、タンパク質毎に核から細胞質への移行を引き起こすストレスの種類または強度が異なっていると考えられる。

以上の結果は、NFAR2のPrLDはNFARsの核局在に重要であり、特にAMYにおけるWIRS感受性の核質局在を担うことを示唆した。そこで、以降の実験ではAMYに着目して実験を行った。

## 5. NFAR2のPrLDはAMYにおけるWIRS依存性mRNA発現・翻訳変化を制御する

NFAR2は細胞ストレス依存的に遺伝子発現制御に関わることから、mRNA発現におけるPrLDの役割をRNA-seq法を用いて調べた（図8A）。まず、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでのWIRS

によるmRNA発現変化を調べた（図8B；表1）。先行研究で慢性ストレスによって誘導されることが知られている遺伝子発現の上昇を、本研究の系でも確認できた。具体的には、心理的ストレスによる転写活性化が報告されている glucocorticoid-inducible factor *Tsc22d3*（Yang et al., 2019）や、WIRSによる転写活性化が知られる serum and glucocorticoid-regulated kinase 1（*Sgk1*）（Miyata et al., 2011）のmRNA発現上昇が見られた（図8B、10O；表1）。また、得られたデータを用いて遺伝子オントロジー（gene ontology, GO）解析を行ったところ、WIRSによって発現上昇した遺伝子は、「Ribosome」、「Nucleosome assembly」、「Oxidative phosphorylation」、「Parkinson's disease」などのGO termに有意に多く分類された（図8H；表4）。本研究で得られたこれらリボソームやミトコンドリアの機能に関連するGO termの結果は、慢性ストレスに曝されたマウスの前頭前皮質における先行研究結果とよく一致していた（Weger et al., 2020）。以上の結果は、本研究におけるWIRSを用いた慢性ストレス暴露がうまく機能していることを示した。

次に、PrLD欠損によるmRNA発現への影響を解析した（図8C、表2）。興味深いことに、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは、WIRS負荷なしの条件下でも、WIRSを負荷した*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスとよく似たmRNA発現パターンを示した（図9A、表7）。実際、両者は高い相関を示した（図9B）。また、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスへのWIRS負荷によって発現上昇したmRNAと同様のGO term（「Oxidative phosphorylation」、「Parkinson's disease」など）が、PrLDの欠損によって発現上昇したmRNAのGO解析でも見出された（図8I、表5）。以上の結果は、NFAR2のPrLD欠損がマウスAMYにおける遺伝子発現プロファイルを、慢性ストレス負荷時のプロファイルに近づけることを示唆した。これは、免疫染色における慢性ストレス負荷時のNFARsの核/細胞質シグナル比の減少が、PrLD欠損によっても引き起こされた結果とよく似ていた。

WIRSを負荷した*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおいても、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと同等あるいは増長されたWIRS誘導型mRNA発現プロファイルが見られた（図8D；表3）。WIRS負荷*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスとWIRS負荷*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスのmRNA発現プロファイルの全体的なパターンは、概ね似ていた（図8J、9A、9C；表6、7）。具体的には、WIRS応答性mRNA（*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでWIRSによってmRNA発現が上昇した遺伝子群として定義、図8Bの赤い点）は、WIRSを負荷した*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでも上昇した（図10A、表17）。また、

マウス脳の慢性ストレスマーカーとして報告されているミトコンドリアゲノム遺伝子 (*Mt*) とヘモグロビン遺伝子 (*Hb*) のmRNA発現は (Weger et al., 2020; Schelshorn et al., 2009; Stankiewicz et al., 2014) 、 *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでもWIRS負荷によって上昇し、その程度は*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスよりもむしろ顕著であった (図10D、10G; 表20、23) 。これらの結果は、WIRSによってmRNA発現が例外的に減少する*mt-Nd6*とともに、RT-qPCRを用いて確認した (図10J-10M) 。しかしながら、WIRSによるmRNA発現変化は、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスと*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスとの間でほとんど相関関係はなかった (図9D; 表8) 。これらの結果は、NFAR2のPrLD欠損が、マウスAMYでの慢性ストレスに対するmRNA発現応答パターンを変化させたことを示唆した。

WIRSおよびPrLD欠損による翻訳への影響を解析するために、RNA-seqと同一のサンプルを用いてribosome profilingを行った (McGlinicy and Ingolia, 2017; Mito et al., 2020; Nakazawa et al., 2020) (図8A) 。RNA-seqで観察されたmRNA発現変化 (図9A-9C; 表7) と基本的に同様の翻訳変化が見られた (WIRS、PrLD欠損、および両者の複合効果の間での高い相関) (図9E-9G; 表15) 。また、RNA-seqの結果で見られたように (図9D; 表8) 、WIRSによる翻訳変化は*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスと*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスとの間で相関関係がなかった (図9H; 表16) 。WIRSによる翻訳変化は、必ずしもmRNAの発現変化を反映したものとは限らなかった (図8E-8G、8K-8M; 表9-14) 。実際、WIRS応答性mRNAの発現上昇は、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの両方で、翻訳レベルでバッファリングされていた (図10A-10C; 表17-19) 。しかしながら、*Mt*および*Hb*は、WIRS負荷とPrLD欠損の複合効果によるmRNA発現上昇に伴って翻訳が上昇しており (図10E、10F、10H、10I; 表20-25) 、GO解析の結果でもそれら遺伝子に関連したGO termが得られた (図8M; 表14) 。これらの結果は、NFAR2のPrLDの欠損が慢性ストレスに対する翻訳応答を変化させたことを示唆した。以上の結果をまとめると、マウスAMYにおいて、NFAR2のPrLD欠損はWIRSなしでもストレス誘発性のmRNA発現と翻訳の変化を模倣し、さらにmRNA発現と翻訳のWIRS応答制御を変化させることを示した (図11) 。

## 6. *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは体温と活動レベルの増加、不安様行動の減少、および恐怖条件付け学習の異常を示す

次に、NFAR2 PrLDの機能がマウスの行動において担う役割を調べるために、網羅的行動テストバッテリーを行った (Takao et al., 2010; Ohashi et al., 2016) (表26)。*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと比較して、同等の筋力 (図12C、12D)、運動学習能力 (図12F)、感覚能力 (図12E、12H) を持っていた。しかしながら、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは有意な体重減少 (図12A) および体温上昇 (図12B) を示した。また、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは網羅的行動テストバッテリーで行ったテスト全体を通じて活動量の増加を示すことが特徴的だった (図13B、13C、13F、13H、13J、13L、14D、14E、14F、14J、14K、14O、14P、14T、14U、14Y; 表26)。他にも、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは、オープンフィールドテスト (図13A) および明暗選択テスト (図13E) での不安様行動の低下 (図13D、13G、13I)、尾懸垂テストでのうつ様行動の増加 (図13P)、驚愕反応の著しい低下 (図12G) を示した。一方で、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスと*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスの間に有意な社会性の違いは認められなかった (図14A、14B、14I、14N、14S、14X、14Z)。

さらに、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの記憶・学習能力についても調べた。空間作業記憶を調べるために行ったT字型迷路を用いた自発的行動課題では、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスに比べて素早い課題遂行能力を示し (図15A-15C)、空間記憶能力を測るバーンズ迷路では、一部のセッションで課題遂行能力の低下が見られたが、短期および長期の空間記憶の保持について*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと有意な差は見られなかった (図15D-15I)。以上の結果は、NFAR2 PrLD欠損は空間学習・記憶に影響しないことを示した。

一方、文脈および手がかり記憶を用いた恐怖条件付け学習では、条件付け、文脈テスト、手がかり (ブザー音) テストの全てのセッションにおいて恐怖反応の低下を示した (図15J-15O)。ホットプレートテストでの痛覚応答 (図12E) およびプレパルス抑制による驚愕反応の抑制 (聴覚) (図12H) は正常であったことから、恐怖反応の低下は感覚異常によるものでないと推測される。AMYは恐怖などの情動行動に関わることが知られており、恐怖条件付け学習における異常は、AMY関連の神経ネットワークおよび機能がNFAR2 PrLD欠損によって強く影響を受けていることを示唆した (Phelps and LeDoux, 2005; Babaev et al., 2018)。

## 7. *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは恐怖刺激によるvHIPでのc-Fos発現上昇が抑圧される

恐怖反応の低下は情動に関連するAMYを含んだ神経ネットワークの活動に異常があることを示唆することから、恐怖刺激（フットショック、以下FS）提示時の神経活動をその指標であるc-Fos発現について免疫染色法で調べた（図16A）。*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでは、FS提示によってdHIPでのc-Fos陽性細胞の増加傾向が見られ、AMYとvHIPではc-Fos陽性細胞が著しく増加した（図16B-16J）。一方、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは、dHIPおよびAMYでは*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと同様にc-Fos陽性細胞の増加が見られたが（図16B、16D-16H）、そのような増加がvHIPでは認められなかった（図16C、16I、16J）。vHIPとAMYはどちらも情動行動に関わっており、構造的かつ機能的に連結していることから（Fanselow and Dong, 2010; Kim and Cho, 2020）、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのvHIPでFS応答性の神経活動が失われていることは、AMYにおける変化の影響を受けている可能性がある。このような神経の連結という観点から考えると、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMY由来の神経初代培養細胞において軸索の初期発達遅延が見られたという実験結果は、神経連結の異常に関わる表現型を観察したものかもしれない（図17A-17I）。

## 8. NFAR2のPrLDは恐怖条件付け学習の記憶保持に慢性ストレス耐性を付与する

次に、WIRS負荷時におけるPrLD欠損の行動レベルでの影響を調べるために、WIRSを負荷したうえで、モリス水迷路と受動的回避テストを行った（図19A）。空間学習・記憶能力を調べるモリス水迷路では、バーンズ迷路の結果と同様に（図15D-15I）、PrLD欠損は空間学習・記憶能力に影響を及ぼさなかった（図19E、19F）。またこのテストで、WIRSはどちらのマウスの結果にも影響を与えなかった（図19E、19F）。しかし、恐怖条件付け学習を評価する受動的回避テストでは、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスはFSを受けた暗室への滞在時間が減少した（恐怖記憶が形成された）一方で、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスはFSを受けた後も*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスに比べて有意に暗室滞在時間が長かった（図20A、20D）。これは、網羅的行動テストバッテリーで行った恐怖条件付け学習の結果と一致して（図15J-15O）、PrLD欠損が恐怖条件付け学習に影響を与えることを示した。注目すべきことに、WIRSは*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスのFS暴露による暗室回避行動に影響しなかった一方で、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの暗室回避行動をさらに悪化させた（図20A、20D）。

以上の結果は、NFAR2 PrLD欠損が、恐怖条件付け学習の低下および恐怖記憶形成におけるWIRS耐性を低下させたことを示唆した。

*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではNFAR1様タンパク質（NFAR1とNFAR2ΔPrLD）の増加やNFARsの減少が見られたことから（図4E、4F、4H）、恐怖条件付け学習と慢性ストレス耐性におけるPrLDの役割をより明確にするために、NFARΔPrLDタンパク質やNFARsの発現量を摂動したマウスを用いて行動実験を行うことにした。そのために、CRISPR/Cas9システムを用いて*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスを新たに作製した。ゲノム編集によって、*Ilf3*遺伝子のエクソン7の14 bpを削除し、フレームシフトによってエクソン9に終止コドンができた変異マウスが得られた（図18A-C）。変異*Ilf3*アレル（*Ilf3*<sup>-</sup>アレル）は、1-224アミノ酸残基は野生型と同一だが、225-263が変異したアミノ酸残基となっていた（図18C）。*Ilf3*<sup>-</sup>アレルを持ったマウスで*Ilf3*<sup>-</sup>アレル由来の変異タンパク質が存在しているか調べるために、ILF3のN末端を認識するポリクローナル抗体を用いたウェスタンブロッティングを行ったが、予想された分子量に*Ilf3*<sup>-</sup>アレル特異的なタンパク質は認められなかった（図18G）。以上の結果、NFARsが減少した*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスおよび、NFAR1様タンパク質の発現量が*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスと同程度かつPrLDが欠損している*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスが得られた（図18H-18J）。得られたこれらのマウスを用いて、WIRS負荷および記憶・学習テストを行った。

まず、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスはモリス水迷路において、トレーニング期間中に*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスよりもプラットフォームにたどり着くまでに時間を要したが、トレーニングを繰り返す毎にその時間は短縮し（学習した）、トレーニング後のプローブテストでは*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスと同程度の学習成績を示した（図19G、19H）。また、WIRSは空間学習の成績に影響しなかった（図19H）。これらの結果は、PrLD欠損とNFAR2ΔPrLDタンパク質の発現低下はどちらも空間学習・記憶に有意な影響を与えないことを示した。一方で、受動的回避テストでは、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスはFSが提示された5分後もFS提示前と同程度暗室に滞在しており、学習が全く成立しなかった（図20E）。そのため、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスで観察されたようなWIRSによる恐怖記憶の悪化を評価できなかった。しかしながら、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスに比べてNFAR1様タンパク質の発現量が低下している*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスで恐怖条件付け学習が成立しなかったことは、NFAR2のPrLDが特異的



に恐怖条件付け学習に関わるわけではなく、NFAR1様タンパク質も量依存的に関与することを示唆した。

NFAR1とNFAR2の発現量が低下した*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスは、モリス水迷路での空間学習能力は*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと同程度であり、WIRSによる影響も観察されなかった(図19I、19J)。しかしながら、*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスは受動的回避テストにおいて恐怖記憶の低下が認められた(図20I、20L)。この結果は、NFARsの発現量低下が恐怖記憶保持の低下につながることを示した。しかしながら興味深いことに、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスで見られたようなWIRS負荷による恐怖記憶の悪化が(図20A、20D)、*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスでは観察されなかった(図20I、20L)。この結果から、PrLDの有無が恐怖記憶のWIRS耐性に影響したと考えられた。以上の結果をまとめると、PrLDに関係なくNFAR1とNFAR2の両方が恐怖条件付け学習・記憶に関与しているのに対して、NFAR2のPrLDは、恐怖条件付け学習の記憶保持における慢性ストレス耐性に重要であることが示された。

## < 考察 >

本研究では、顕微鏡を用いた組織学的解析、RNA-seqとribosome profilingを用いた網羅的な転写・翻訳解析、および行動解析を通じて、NFAR2のPrLDが核への局在に重要であること、慢性ストレス依存的なmRNA発現・翻訳調節に重要であること、慢性ストレス下におけるマウスの恐怖記憶形成・保持に重要であることを明らかにした。*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスのAMYでは、NFARsは核に多く局在し、WIRS負荷によってその核局在が低下した。一方、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではWIRS無しでもすでに核局在が著しく低下しており、WIRS負荷による局在変化は観察されなかった。興味深いことに、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMYではWIRS無しでも、WIRS負荷*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスのAMYと似たmRNA発現・翻訳パターンを示した。これは、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではWIRS無しでも、WIRS負荷*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと同様にNFARsの核局在が低下したと良く対応している。さらに、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMYは、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスとは全く異なるWIRS依存性mRNA発現・翻訳プロファイル変化を示した。これは、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRS依存的なNFARsの核局在変化が*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは失われていることと関連していると考えられる。以上の結果を踏まえると、NFAR2へのPrLD挿入は、NFARsによる慢性ストレス負荷時におけるmRNA発現と翻訳の時空間制御に重要な核局在制御に必要な分子間相互作用の獲得につながった可能性がある。*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの恐怖条件付けテストの比較から、NFARsはPrLD以外のタンパク質領域で恐怖記憶の形成に関与しており、さらにPrLDによる制御によって、情動に関係するAMYなどの神経系の慢性ストレスに対する耐性を高め、結果として、マウスにおける恐怖記憶形成・保持の慢性ストレス耐性獲得に繋がったと考えられる（図21）。

本研究では、マウス生体においてNFAR2のPrLDが凝集体形成ではなく、NFARsの核局在に重要であることを示した。PrLDは凝集体形成能を持つ因子として認識されているが、近年、これに異論を唱える研究も見受けられる。例えば、神経変性疾患の原因因子として有名なTDP-43のPrLDは、核内顆粒の形成を促進するよりもむしろ抑制的に働くことが報告されている（Wang et al., 2002）。本研究や先行研究でも、PrLDを持つNFAR2よりもむしろPrLDを持たないNFAR1（NFAR2ΔPrLD）の方が核内顆粒に局在が限定され、NFAR2の局在は核内顆粒だけでなく核質にも広がっていることが示

されている。PrLD含有タンパク質の網羅的な解析によって、PrLD含有タンパク質はRNAやDNA結合部位を持つものが多く、核質局在化との関連も示されていることから (March et al., 2016)、生理的な条件下では、凝集体形成よりもむしろ核質への局在化がPrLDの持つ共通機能である可能性がある。本研究で示唆された結果は、PrLDの生理的意義の解析を発展させていくにあたって、一つの大きな足掛かりとなりうる。

核から細胞質へのNFARsの移行は細胞ストレスによって促進されることから (Harashima et al., 2010; Shiina and Nakayama, 2014)、PrLD欠損によるNFARsの核局在の減少は、ストレス条件下の状態を模倣している可能性がある。実際、PrLD欠損による遺伝子発現プロファイルの変化と、野生型マウスにおけるWIRSによって誘導される遺伝子発現プロファイルの変化は相関関係にあることから、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではWIRS無しでも慢性ストレスを負荷されたような状態になっていることが示唆される。この仮説は、慢性ストレスによって引き起こされることが報告されている体温上昇や活動量増加を (Oka 2015; Pardon et al., 2004)、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスがWIRS無しでも示すことから支持される。また、NFARsの発現量は低下しているもののPrLDを有する*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスでは、活動量増加が観察されなかったことも仮説の根拠として挙げられる (図20J、20LのPre; 図20B、20C、20F、20GのPreと比較)。 *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのコントロール条件下での慢性ストレス様状態およびWIRS負荷時の遺伝子発現変化パターンの異常が (図9D、9H)、慢性ストレス耐性を低下させている可能性がある。さらにRibosome profilingのGO解析では、PrLD欠損とWIRSの複合効果によって「Oxidative phosphorylation」や「Cellular oxidant detoxification」のGO termが得られた。これらGO termに含まれるmRNAの翻訳がWIRS負荷条件下の*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMYで特異的に増加しているということは、それら酸化ストレスに関連した生化学的なプロセスが変化していることを示唆している。

*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの両方が、コントロール条件下で*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスに比べて恐怖記憶の形成を低下させた。ただし、WIRS負荷による恐怖記憶の更なる悪化は、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのみで観察され、*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスでは見られなかった。このことは、NFAR2のPrLDの有無は、恐怖記憶形成・保持の慢性ストレス耐性の有無と密接に関連することを示唆した。細胞レベルでは、PrLD欠損は、vHIPにおいてはFS誘発性神経活動レベルの低下、一方AMYにおいてはWIRS感受性の低下を引き起こした。

これらの結果から、以下のモデルが考えられる。1) vHIPにおけるFS誘発性神経活動はPrLD非特異的にNFARsに依存し、おそらく用量依存的であり、恐怖記憶形成を司る。2) AMYにおける慢性ストレス感受性はPrLDに特異的に依存し、恐怖記憶の慢性ストレス耐性を司る。vHIPとAMYは、恐怖を含む情動記憶に関連しており、構造的かつ機能的に神経接続していることを考えると、AMYの持つPrLD依存的なストレス感受性が、vHIPを含んだ恐怖記憶形成に関わる神経回路全体に影響を与えている可能性がある。一方、本研究では、AMYではストレス関連遺伝子だけでなく、*Lsamp*や*Bptf*（別名fetal Alzheimer antigen）などの恐怖記憶との関連が指摘されている遺伝子（Lamprecht et al., 2009; Innos et al., 2012）の発現がWIRS依存的に変化するという結果が得られている。これは、AMYにおけるNFAR2 PrLDがこれら遺伝子の発現制御を介して、単なるAMYのストレス感受性の調節だけでなく、より複雑に恐怖記憶を制御している可能性を示唆している。*Lsamp*は軸索の伸長とターゲティングに関与しており（Pimenta et al., 1995）、これは*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMY由来神経初代培養細胞が軸索の初期発達遅延を示したという実験結果（図17A-17I）と一致している。したがって別のモデルとしては、NFAR2のPrLD欠損がより直接的に恐怖条件付け学習の低下に関与しており、例えば、WIRS依存的にAMYからvHIPへの神経活動の出力低下を引き起こした可能性なども考えられる。

*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの全ての変異マウスについて恐怖条件付け学習の異常が認められる一方で、空間学習では全ての変異マウスが*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと同等の学習能力を示した。この表現型の原因は不明であるが、FXR2やAtaxin-2などのIDR含有RNA結合タンパク質のノックアウトマウスで同様の行動表現型が報告されている（Bontekoe et al., 2002; Huynh et al., 2009）。恐怖条件付けにはAMYとvHIPが重要だが、空間記憶にはdHIPが関わる（Fanselow and Dong, 2010）。AMYとvHIPは、これらのRNA結合タンパク質の異常によって引き起こされる遺伝子発現の変化に対して、dHIPよりも敏感である可能性があり、これが恐怖などの情動関連行動のみに異常が見られる原因かもしれない。もしくは、トラウマ的な経験による脳の酸化ストレスレベルの増加が示唆されていることから（Miller and Sadeh, 2014）、空間学習よりもマウスにとってストレスフルな恐怖条件付けは、IDR含有RNA結合タンパク質によるストレス応答性の遺伝子発現制御を必要とする可能性がある。以上を踏まえる

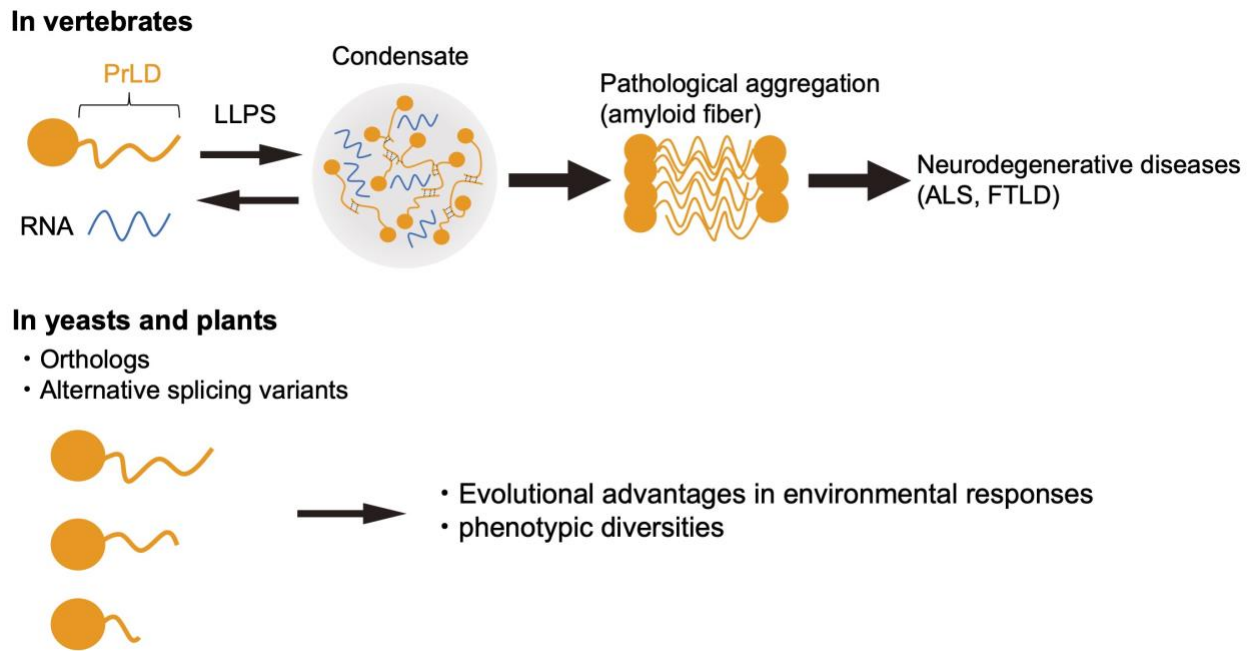
と、NFAR2のPrLDは、ストレスの多い環境下でも、AMYとそれに関連した神経活動の恒常性保持を可能にする適応スイッチとして機能している可能性がある。こういったPrLDの役割は、変動する環境に対応する酵母および植物におけるPrLDの生理機能を連想させる (Halfmann et al., 2012; Jung et al., 2020; Dorone et al., 2021)。他の様々なタンパク質におけるPrLDも環境への適応に寄与するかどうかは、今後の重要な生命科学の課題であると思われる。

NFAR2と同様に、PrLDの選択的スプライシングは、TDP-43やhnRNPA1などの多くのPrLD含有タンパク質で見られる (Weskamp et al., 2020; Deshaies et al., 2018)。これらのスプライシングアイソフォームは、病原性凝集体を形成する能力が異なっており (Weskamp et al., 2020; Deshaies et al., 2018)、PrLDの挿入 (または削除) による他分子との分子間相互作用の変化は、ゲノムの増減に頼らないタンパク質機能多様化の基盤である可能性がある。PrLDの持つ生理的・進化的な利点と病理学的なリスクとの間には、何らかのトレードオフがあるものと想定できる。本研究では、NFAR2のPrLDのマウスにおける生理的意義を検証した。しかしながら、PrLD欠損型のNFAR1も同時に発現する必要があるのかどうかは未だ不明である。PrLD含有タンパク質に関するこれらの疑問を解決することは、PrLDの生物にとっての長所と短所、およびそれらのトレードオフをよりよく理解することにつながり、生物の多様性や進化といった面でも深い洞察を与えるものであると考えられる。

最後に、本研究で解けなかった将来の課題を挙げる。第一に、NFAR1とNFAR2のそれぞれに対する特異的な抗体が現状存在しないという点である。本研究で使用した抗ILF3抗体はNFAR2とNFAR1の共通領域に対する抗体であり、NFAR1とNFAR2の細胞内局在を個別に調べることができなかった。加えて、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおけるNFAR1とNFAR2ΔPrLDを識別できなかった。解決策として、NFAR1のC末端15アミノ酸残基に特異的な抗体やNFAR2のPrLDに対する抗体を作製することが挙げられる。これによって、NFAR1とNFAR2の慢性ストレス時の細胞内挙動の違いや、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおけるNFAR1の挙動の違いなどの解析が可能になり、PrLDの有無による機能相違のより詳細な理解につながる。

第二に、本研究で使用した*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは全身でNFAR2 PrLDが欠損しており、NFAR2 PrLD欠損による脳領域特異的な影響の解析ができなかった点である。任

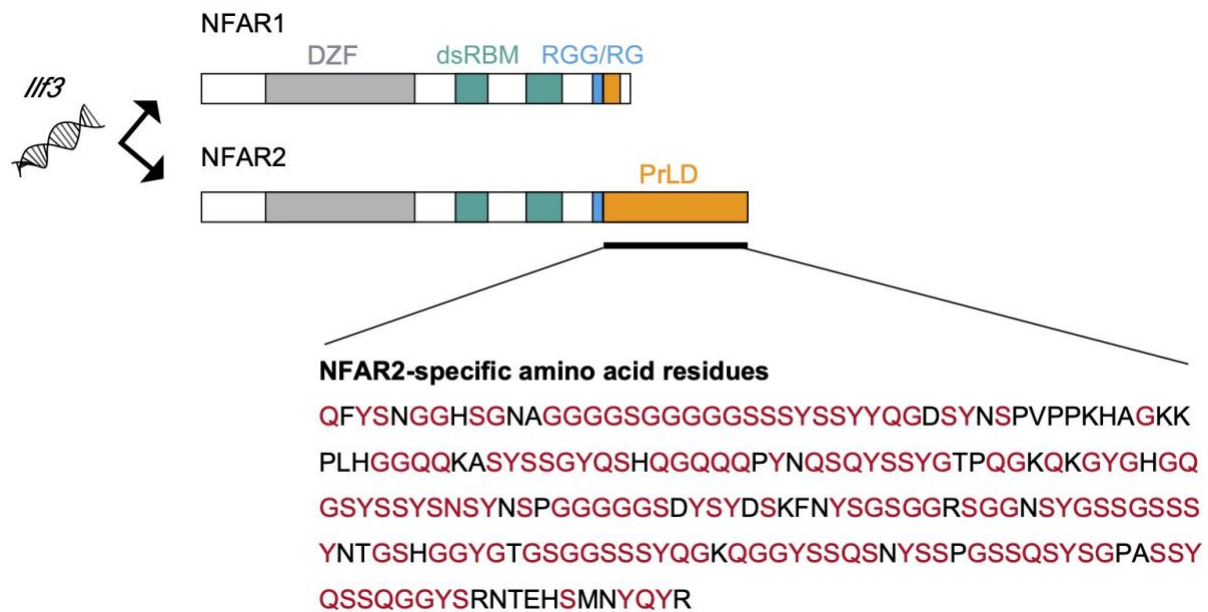
意のタイミングで特定の標的細胞でのみNFAR2 PrLDを欠損させるコンディショナル  
ノックアウトマウスを作製・解析することで、NFAR2 PrLDの脳領域特異的な役割、  
例えばAMYとvHIPにおける役割、を明らかにすることができるだろう。



**図1. 脊椎動物および酵母・植物で明らかにされてきたPrLDの役割**

脊椎動物では、PrLDの持つ相分離能とそれによる病理学的側面に注目した研究が行われてきた。PrLDはLLPSによってコンデンセートを形成することができ、老化や遺伝的要因によって病原性の凝集体を形成して神経変性疾患を引き起こす。一方で、酵母や植物では、相同遺伝子や選択的スプライシングバリエーションの間でPrLDの長さが異なり、この多様性が環境応答や多様性に貢献している可能性が示唆されている。

LLPS, 液-液相分離 (liquid-liquid phase separation) ; ALS, 筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis) ; FTLD, 前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration) 。



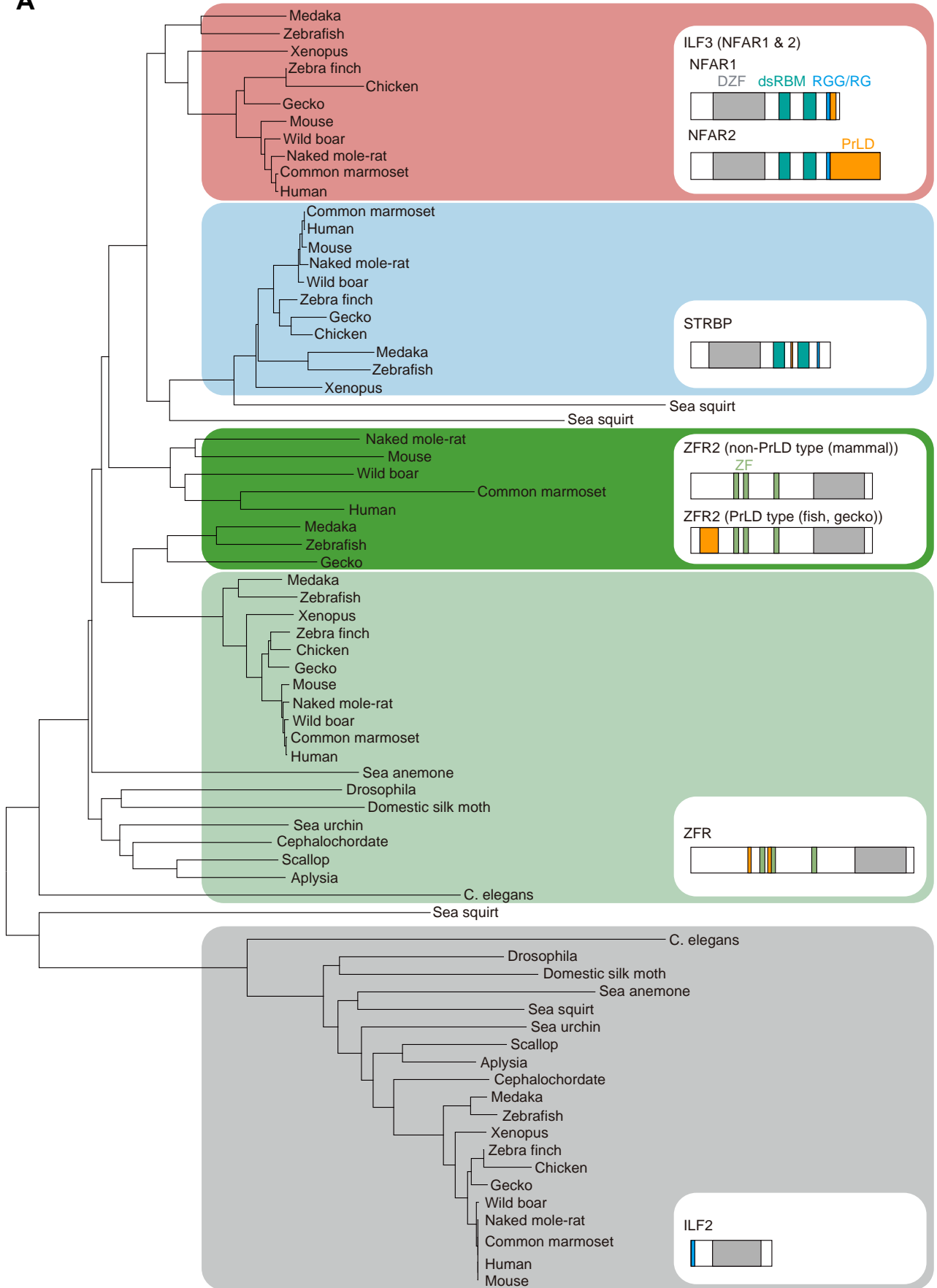
## 図2. NFAR2特異的なC末端アミノ酸残基はPrLDである

本研究で注目したPrLD含有RNA結合タンパク質NFAR2は*Ilf3*遺伝子から合成され、スプライシングバリエーションにPrLDのないNFAR1を持つ。NFAR2特異的なC末端アミノ酸残基（702-911）はG（グリシン）、Q（グルタミン）、S（セリン）、Y（チロシン）に富み、配列解析によってPrLDとして予測される。

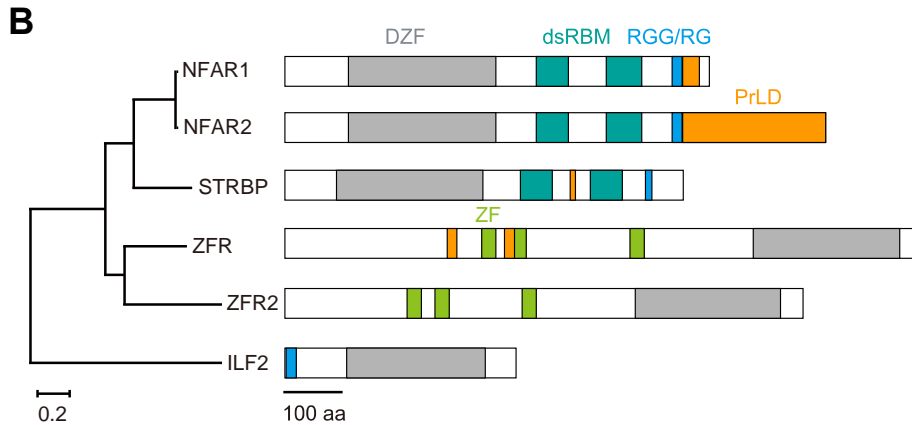
DZF, ダブルジंकフィンガードメイン; dsRBM, 二本鎖RNA結合ドメイン; RGG/RG, Arg-Gly-Gly/Arg-Gly配列繰り返しモチーフ; PrLD, プリオン様ドメイン。



**A**



0.2

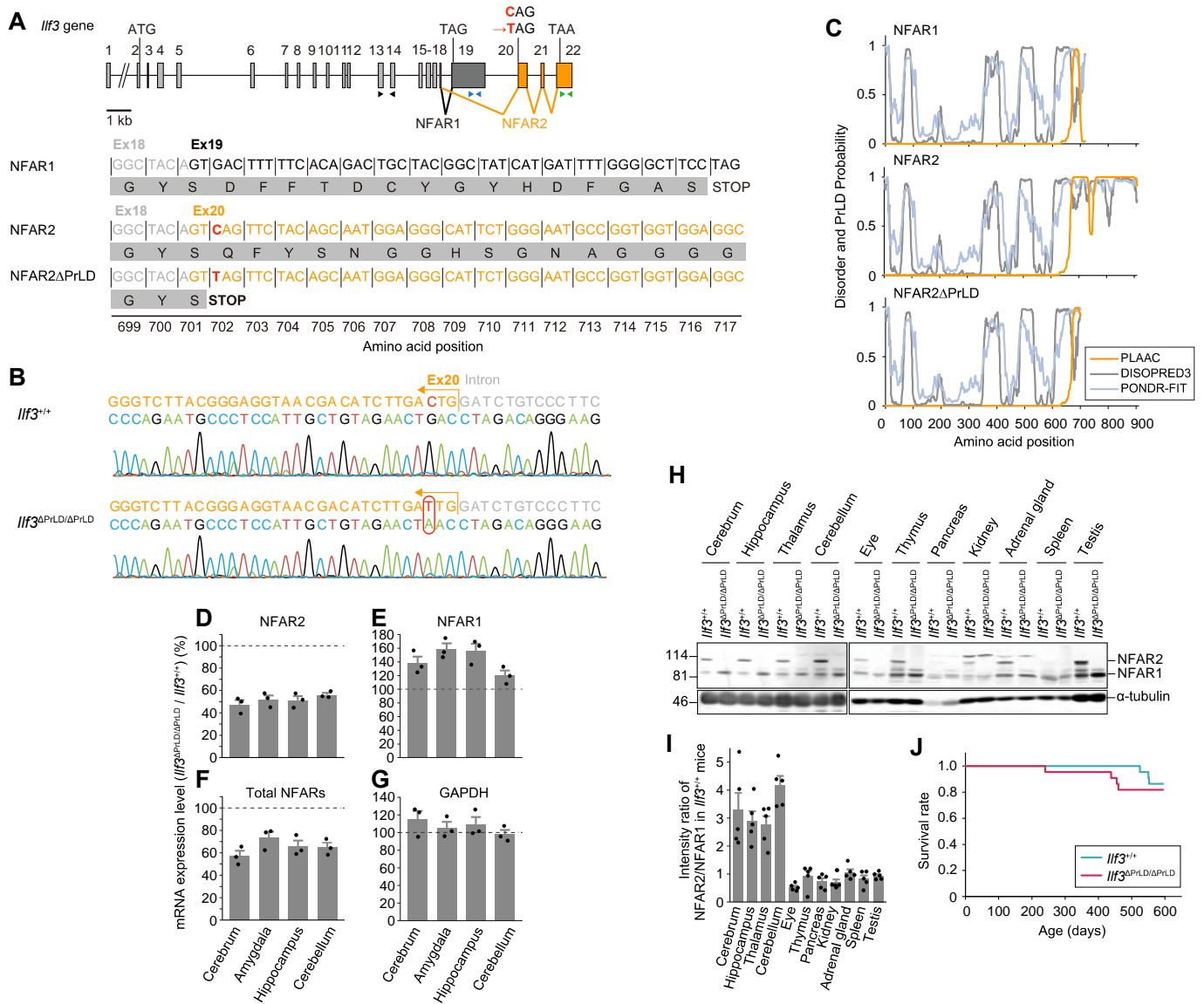


### 図3. DZFファミリータンパク質の分子系統樹

(A) DZFファミリータンパク質の種間分子系統樹。DZFファミリータンパク質であるILF3、STRBP、ZFR2、ZFR、ILF2のドメイン構造を示した。魚類や爬虫類のZFR2はPrLDをN末端側に持つが、哺乳類のZFR2はPrLDを持たないという種間相違がある。また、ホヤには4つのファミリータンパク質があり、そのうちの1つはILF2に分類される。他の3つはILF3やSTRBPと同様の非ZFタイプのdsRNA結合ドメインを持つが、それらのDZFドメインはZFRやZFR2のようにC末端に位置するため、ZFR、ZFR2、STRBP、ILF3のいずれにも分類されなかった。スケールバーは座位毎のアミノ酸置換回数を示す。

(B) マウスにおけるDZFドメインファミリータンパク質の分子系統樹。スケールバーはそれぞれ、(左) 座位毎のアミノ酸置換回数、(右) アミノ酸数を示す。

DZF, ダブルジンクフィンガードメイン; dsRBM, 二本鎖RNA結合ドメイン; RGG/RG, Arg-Gly-Gly/Arg-Gly配列繰り返しモチーフ; PrLD, プリオン様ドメイン; ZF, C2H2型ジンクフィンガードメイン。



#### 図4. *If3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの作製

- (A) マウス *If3* 遺伝子の選択的スプライシングパターンの模式図。エクソン19はNFAR1特異的なC末端アミノ酸残基 (702-716) をコードし、エクソン20-22はNFAR2特異的なC末端アミノ酸残基 (702-911) をコードする。NFAR2<sup>ΔPrLD</sup>ではCからTへの一塩基置換によってエクソン20の先頭に終止コドンを導入した。D-Fでの定量RT-PCRで使用したプライマーの位置が三角形で示されており、それぞれ黒がNFARs、青がNFAR1、緑がNFAR2のものである。
- (B) マウスジェノタイピングにおける *If3* のアンチセンス鎖のDNAシーケンシングの代表例を示した。赤い円は、CからTへの一塩基置換部位を示す。

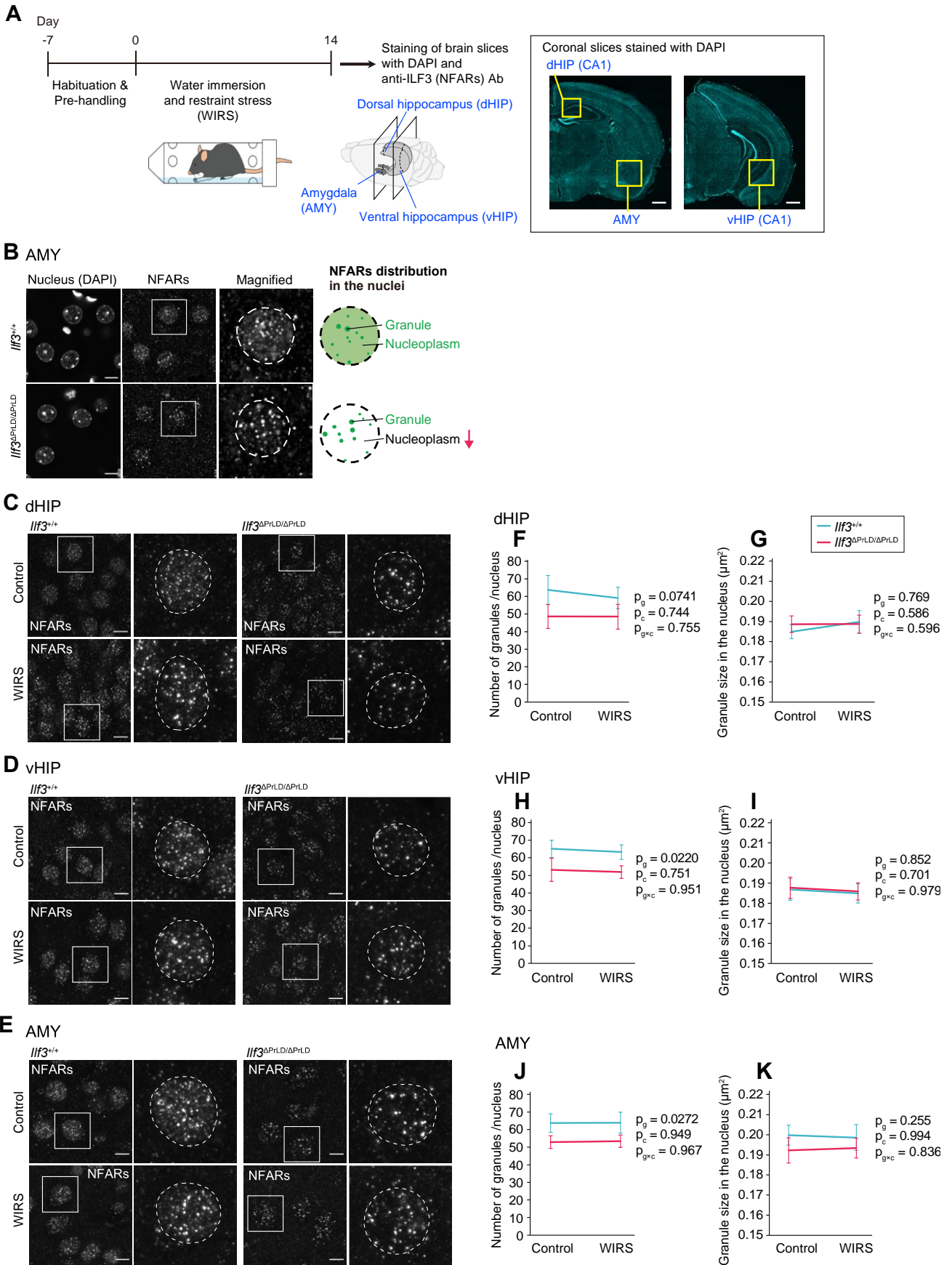
(C) NFAR1、NFAR2、NFAR2ΔPrLDのIDRとPrLDの予測。IDRはDISOPRED3とPONDR-FIT、PrLDはPLAACをそれぞれ用いて予測を行なった。NFAR2はC末端に長いPrLD (671-911) が予測されたのに対し、NFAR1とNFAR2ΔPrLDはどちらもその領域を欠損し、短いPrLD (それぞれ671-698、671-701) が予測された。

(D-G) *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと比較した*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの各脳領域における各mRNAの相対的発現レベル。GAPDHはコントロール。データは、個々の値をドットプロットで示したうえ、平均値±SEMで表した。n = 3。

(H) *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウス組織のNFARsとα-チューブリン (コントロール) に対するウェスタンブローディング。

(I) ウェスタンブローディングにおける*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウス組織でのNFAR2/NFAR1の発現比。n = 5、p < 0.0001、one-way ANOVA。

(J) *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの生存曲線。n = 22、p = 0.6、ログランク検定。



**図5. 核内のNFARs含有顆粒は、NFAR2のPrLD欠損によって数が減少するが、WIRSによる減少は観察されない**

(A) WIRS負荷時のNFARsの核内顆粒解析の概略図。右図は、脳切片のDAPI染色と観察した各脳領域を示す。スケールバーは1 mm。

(B) *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの扁桃体 (AMY) におけるDAPIおよび抗ILF3 (NFARs) 抗体染色画像と、両マウス間で異なるNFARsの核内分布の概略図。*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスはどちらもNFARsを含む顆粒状の構造物が観察された。核質の染色については、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでは核質全体が強く染色されたのに対して、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは染色が弱かった。

(C-E) コントロール群とWIRS負荷群の*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスの背側海馬 (dHIP) (C)、腹側海馬 (vHIP) (D)、扁桃体 (AMY) (E) における抗ILF3 (NFARs) 抗体染色画像。それぞれの左側の画像の枠内を拡大した画像を右側に示しており、その拡大画像では、点線が核の輪郭を示している。スケールバーは10 μm。

(F-K) dHIP (F、G)、vHIP (H、I)、およびAMY (J、K) の核内NFARs顆粒の個数 (F、H、J) とサイズ (G、I、K) の計測。データは平均値±SEMで示した。n = 18 (各群3匹のマウスからの細胞数)。データはtwo-way ANOVAを用いて解析し、遺伝子型による主効果 ( $p_g$ )、WIRSの有無による主効果 ( $p_c$ )、およびそれらの交互作用 ( $p_{g \times c}$ ) のp値を図中に示した。

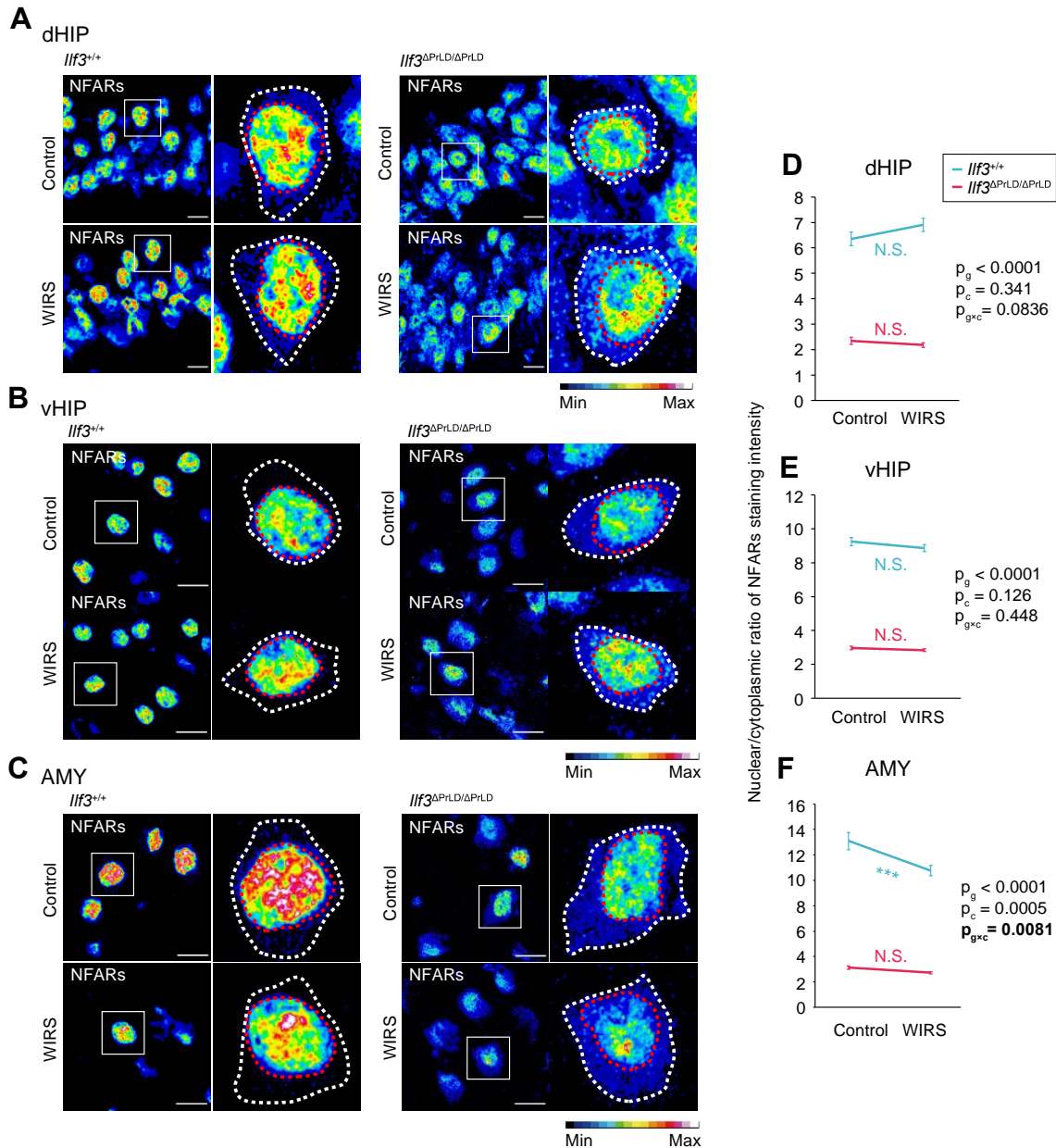


図6. NFAR2のPrLD欠損は、NFARsの核局在を減少させ、扁桃体における慢性ストレス（WIRS）負荷依存的な局在変化を抑圧する

(A-C) *Iif3*<sup>+/+</sup>マウスおよび*Iif3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおける抗ILF3 (NFARs) 抗体染色のヒートマップ画像。それぞれ、背側海馬（dHIP）（A）、腹側海馬（vHIP）（B）、扁桃体（AMY）（C）からの画像である。それぞれの左側の画像の枠内を拡大した画像を右側に示しており、その拡大画像では、白と赤の点線がそれぞれ細胞と核の輪郭を示している。スケールバーは10 μm。

(D-F) 各脳領域におけるNFARs染色強度の核/細胞質比。データは平均値±SEMで示した。n=48（各群3匹のマウスからの画像数）。データはtwo-way ANOVAを用いて解析

し、遺伝子型による主効果 ( $p_g$ )、コンディション (WIRSあり/なし) による主効果 ( $p_c$ )、およびそれらの交互作用 ( $p_{g \times c}$ ) のp値を示した。two-way ANOVA後のTukey-Kramer testによる結果を、\*\*\* $p = 0.000117$ 、 $p \geq 0.05$ で有意差のなかったものをN.S.で示した。



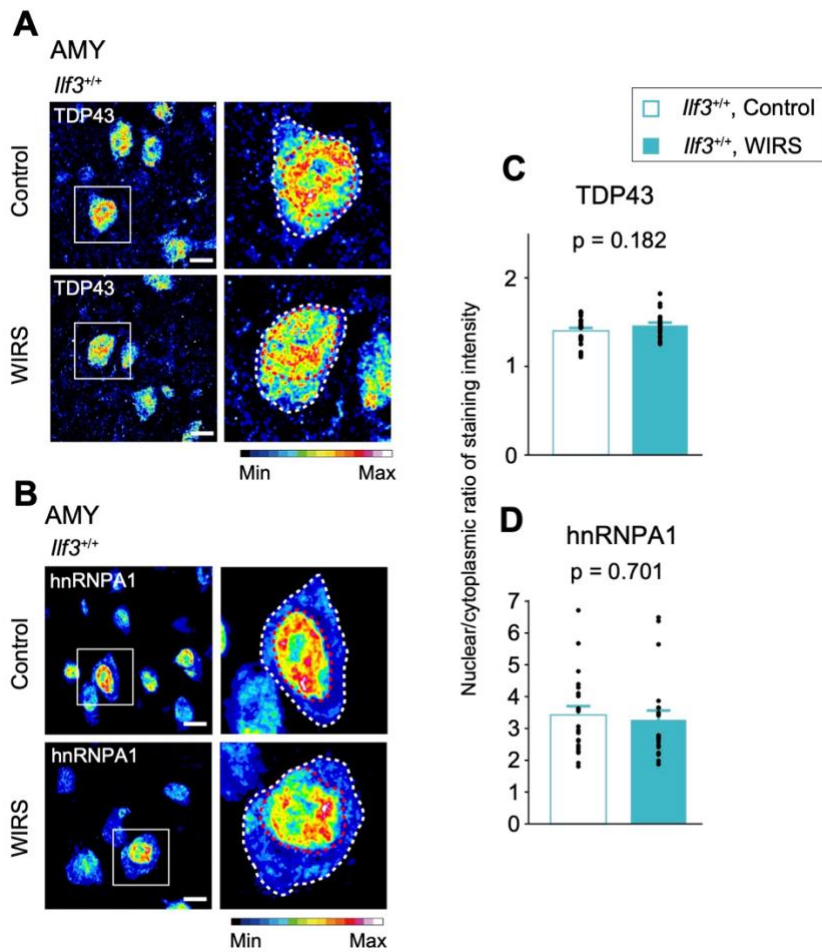


図7. PrLD含有タンパク質TDP-43およびhnRNP A1は、NFARsと異なりAMYにおけるWIRS負荷依存的な局在変化を示さない

(A、B) *Iif3*<sup>+/+</sup>マウスのAMYにおける抗TDP-43抗体染色 (A) および抗hnRNP A1抗体染色 (B) のヒートマップ画像。それぞれの左側の画像の枠内を拡大した画像を右側に示しており、その拡大画像では、白と赤の点線がそれぞれ細胞と核の輪郭を示している。スケールバーは10  $\mu$ m。

(C、D) AMYにおけるTDP-43 (C) およびhnRNP A1 (D) の染色強度の核/細胞質比。n = 21 (各群3匹のマウスからの画像数)。図中にはStudent's t-testを用いたp値を示す。

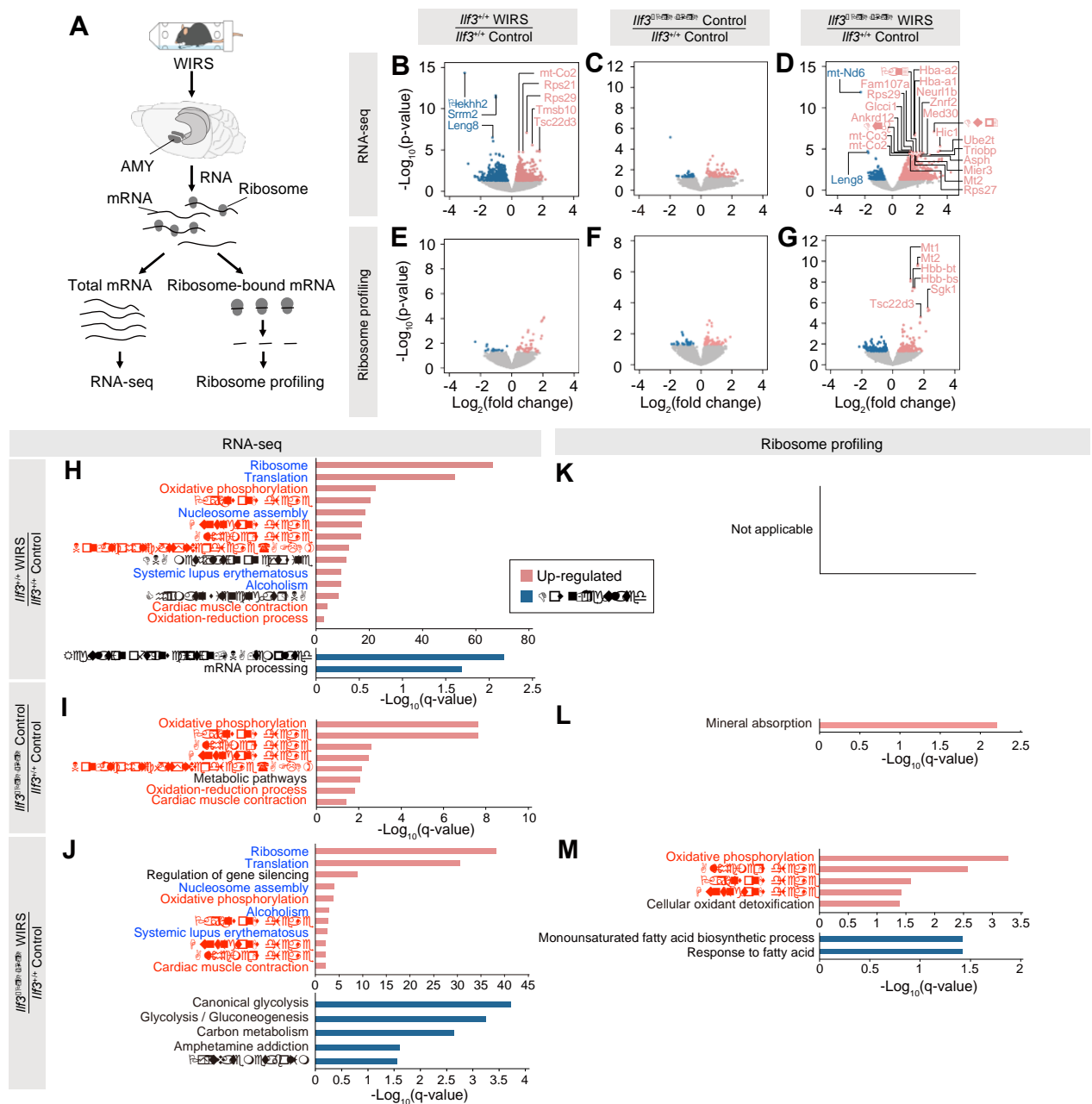


図8. AMYにおけるNFAR2 PrLD欠損およびWIRS負荷によるmRNA発現・翻訳変化の網羅的解析

(A) AMYにおけるRNA-seqおよびRibosome profilingの概略図。

(B-G) mRNA発現変化 (B-D) と翻訳変化 (E-G) のvolcano plot。 *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおいてWIRSによって誘導される変化 (B、E)、コントロール条件下でのPrLD欠損による変化 (C、F)、PrLD欠損とWIRSの組み合わせ効果による変化 (D、G) を示す。青と赤の点は、 $p < 0.05$ のmRNAを示す。  $q < 0.05$ のmRNAの名前が図中に示されている。

**(H-M)** mRNA発現 (H-J) および翻訳 (K-M) が上昇または減少したmRNAのGO解析結果を示す ( $q < 0.05$ )。 *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRS負荷 (H、K)、PrLDの欠損 (I、L)、およびPrLD欠損とWIRSの組み合わせ効果 (J、M) によって変化したmRNAを解析して得られたGO termを示している。青字表記はHとJに共通したGO termを示し、赤字表記はH-JとMに共通したGO termを示している。

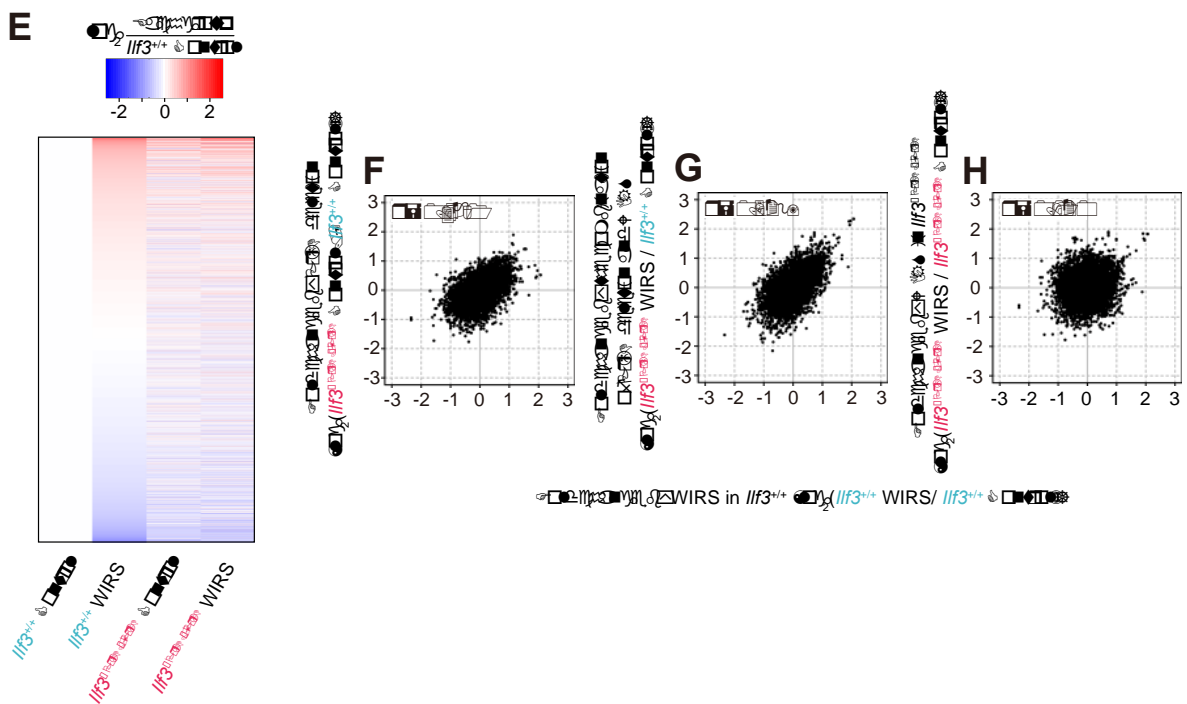
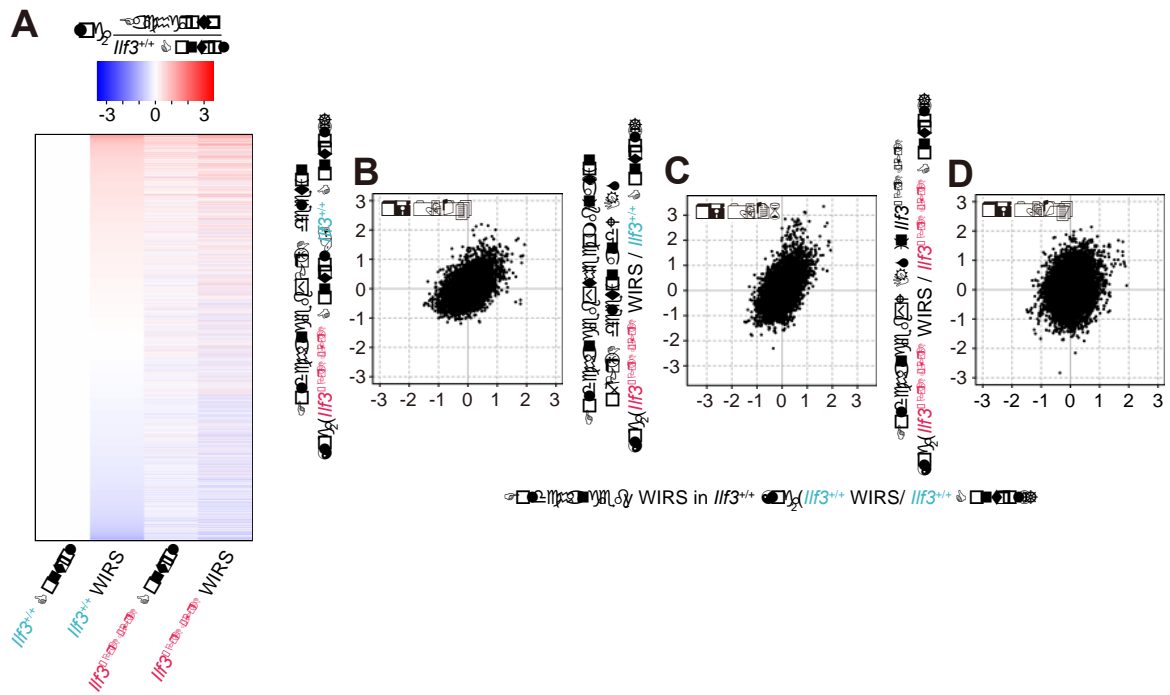


図9. mRNA発現・翻訳変化の比較解析

(A) WIRS負荷、PrLD欠損、およびPrLD欠損とWIRSの組み合わせ効果によるmRNA発現の倍率変化を示したヒートマップ。

**(B-D)** mRNA発現の変化を比較した散布図とピアソン相関係数 ( $r$ )。 *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRSによる発現変化とPrLD欠損による変化の比較 (B)。 *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRSによる発現変化と、PrLD欠損とWIRSの組み合わせ効果によって引き起こされる変化の比較 (C)。 *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRSによる発現変化と *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスにおけるWIRSによる変化の比較 (D)。

**(E)** WIRS負荷、PrLD欠損、およびPrLD欠損とWIRSの組み合わせ効果による翻訳の倍率変化を示したヒートマップ。

**(F-H)** 翻訳変化を比較した散布図とピアソン相関係数 ( $r$ )。横軸と縦軸はB-Dと同じ組み合わせ。

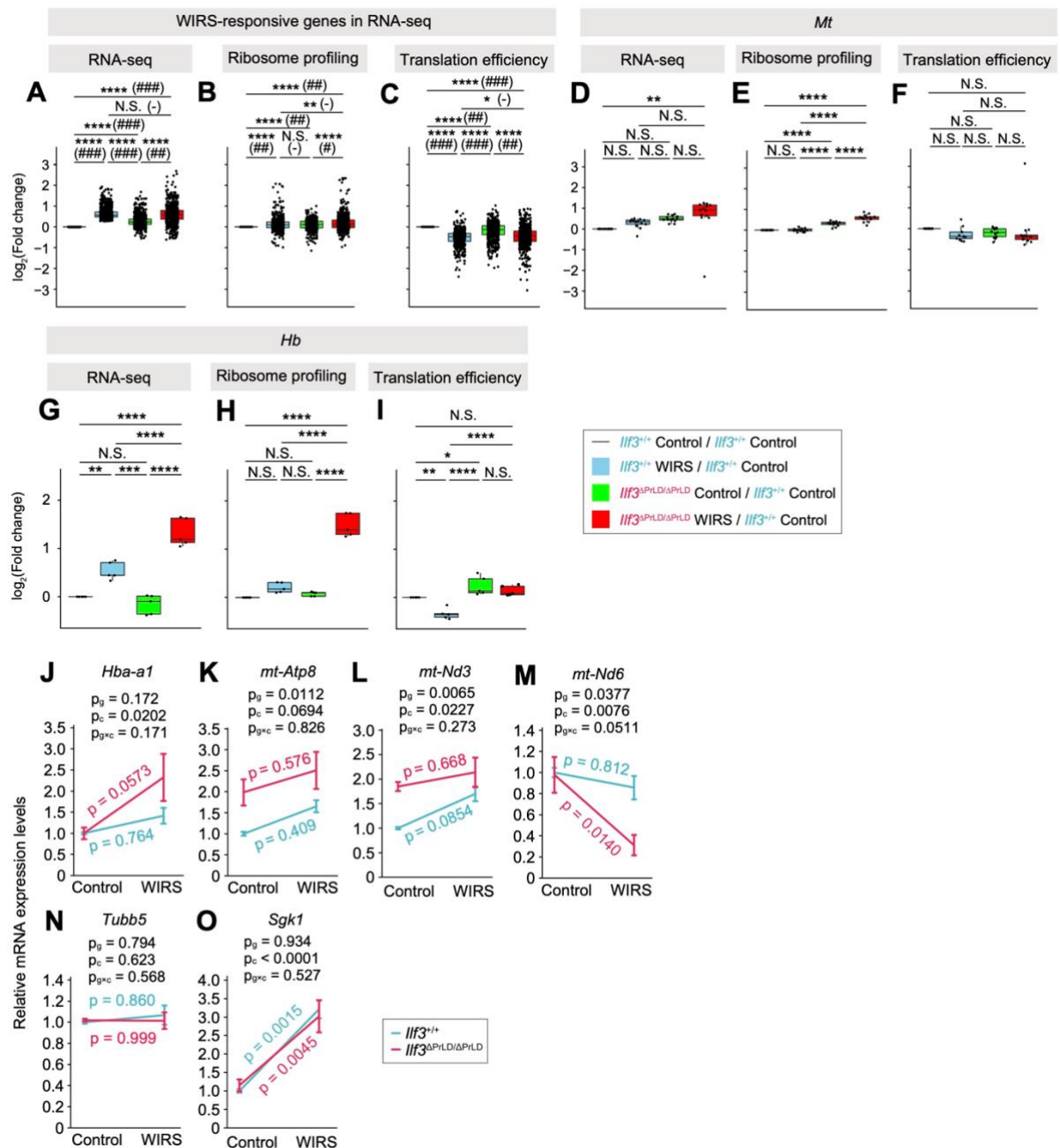


図10. WIRS応答性mRNAおよび個別mRNAの発現・翻訳変化

(A-C) WIRS応答性mRNA (RNA-seqで*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおいてWIRSにより発現が上昇した遺伝子群、図8Bの赤い点で示された遺伝子群) のmRNA発現変化 (A)、翻訳変化 (B)、および翻訳効率変化 (C) を示した箱ひげ図。個々の値をドットプロットで示している。

(D-F) ミトコンドリアゲノム遺伝子 (*Mt*) のmRNA発現変化 (D)、翻訳変化 (E)、および翻訳効率変化 (F) を示した箱ひげ図。個々の値をドットプロットで示している。

(G-I) ヘモグロビン遺伝子 (*Hb*) のmRNA発現変化 (G)、翻訳変化 (H)、および翻訳効率変化 (I) を示した箱ひげ図。個々の値をドットプロットで示している。

(J-O) 代表的な遺伝子のRT-qPCRの結果を示す。各マウスグループのAMYから抽出した等量のmRNAを分析にかけた。mRNAの発現レベルは、コントロール条件下の*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスの値を用いて正規化した。*Tubb5*および*Sgk1*は、それぞれWIRSの影響を受けないコントロールとWIRSによって発現が上昇するポジティブコントロール (N、O)。*Hba-a1* (J)、*mt-Atp8* (K) および*mt-Nd3* (L) は、PrLD欠損 / WIRSによって発現が上昇したが、*mt-Nd6* (M) は発現が低下し、RNA-seqと同様の結果が得られた。データは平均値±SEM (n = 3)。

A-Iにおいて、\*\*\*\*p < 0.0001、\*\*p < 0.01、\*p < 0.05、ボンフェローニ補正を使用したWelch's t-test。N.S.、有意差なし (p ≥ 0.05)。A-CはmRNAのサンプル数が多い (620) ため、効果量 (Hedges' g) も示した。###, |g| ≥ 0.8 ; ##, 0.5 ≤ |g| < 0.8 ; #, 0.2 ≤ |g| < 0.5 ; -, |g| < 0.2。

J-Oにおいて、データはtwo-way ANOVA によって解析した。遺伝子型 (p<sub>g</sub>) とコンディション (WIRSの有無) (p<sub>c</sub>) による主効果のp値、および遺伝子型とコンディション間の交互作用 (p<sub>g×c</sub>) を示した。Two-way ANOVA後のTukey-Kramer testのp値は、青 (*Ilf3*<sup>+/+</sup>) と赤 (*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>) で示した。

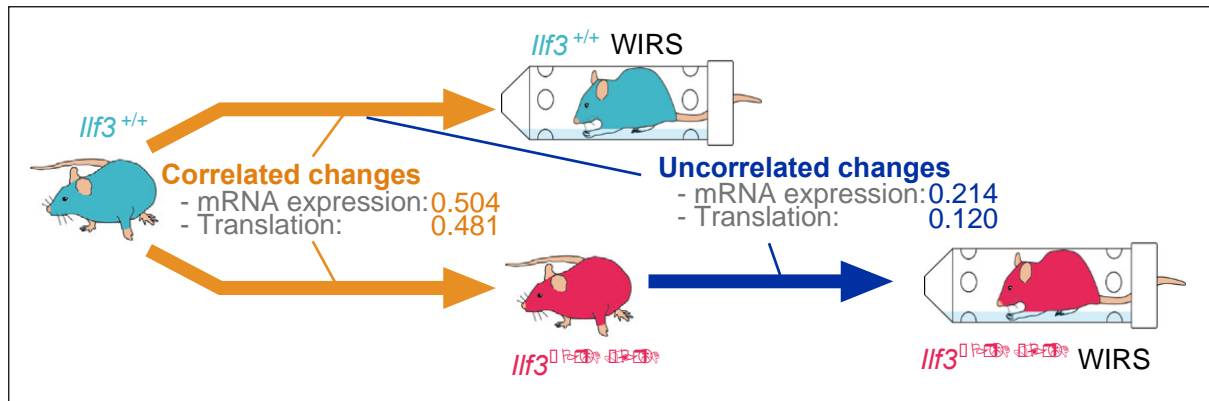


図11. NFAR2のPrLD欠損によるmRNA発現・翻訳変化のモデル図

WIRS負荷およびPrLD欠損によるAMYにおけるmRNA発現と翻訳の変化の相関関係をまとめたモデル図。図中の数字は、図9B、9D、9F、9Hで示したピアソン相関係数。NFAR2のPrLD欠損はWIRSなしでもストレス誘発性のmRNA発現・翻訳変化と相関する変化をもたらし、さらにmRNA発現・翻訳のWIRS応答制御を野生型と相関が見られない程に変化させる。



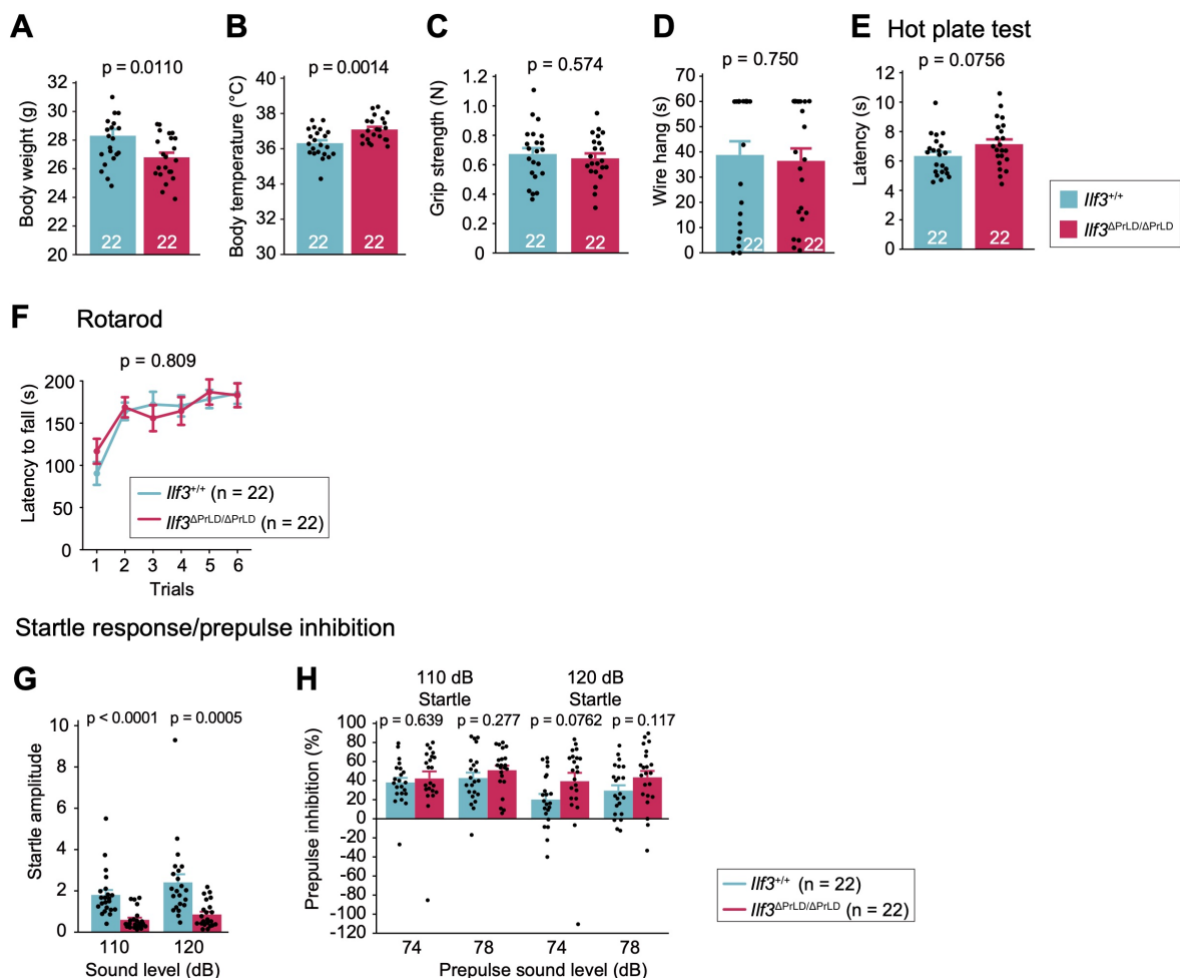


図12. *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは正常な身体・感覚能力を持つが、体重減少・体温上昇・驚愕反応の低下を示す

(A、B) *Ilf3*<sup>+/+</sup> マウスと *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの体重 (A) と体温 (B) の測定結果。

(C、D) 筋力の判定基準として、握力 (C) とぶら下がった金網から落ちるまでの時間 (D) を測定した。

(E) ホットプレートテストでは、熱したプレートにマウスを乗せてから前脚を舐めるまたは擦り合わせるまでの時間を指標に痛覚反応を調べた。

(F) ロータロッドテストでは、回転するロッド上を歩行させて落下するまでの時間を指標にして、協調運動機能および運動学習能力を調べた。

(G、H) 110 dBと120 dBの音に対する驚愕反応 (G) および74 dBと78 dBのプレパルス音提示による驚愕反応の抑制 (H) を、マウスの震えを指標に評価した。*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは *Ilf3*<sup>+/+</sup> マウスに比べて驚愕反応が著しく低下したが、プレパルス抑制は *Ilf3*<sup>+/+</sup> マウスと同程度であることから、聴覚に異常はないと考えられた。

データは平均値±SEMで示す。n数は図中に記載。A-E、G、Hではone-way ANOVAによるp値を示す。Fではtwo-way repeated measures ANOVAを用いた遺伝子型による主効果のp値を示す。

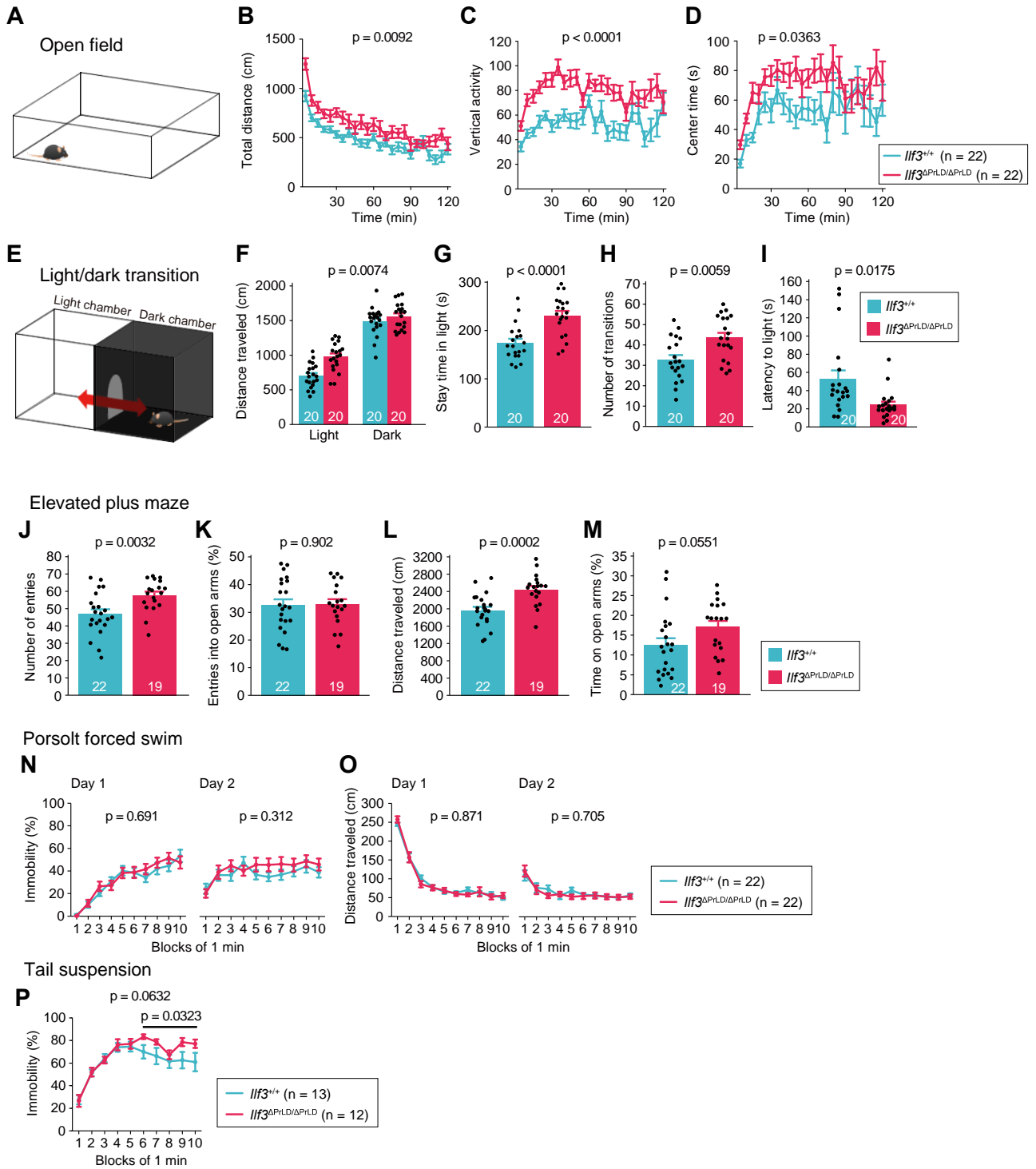


図13. *If3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスは運動量の増加、不安様行動の低下、うつ様行動の増加を示す

(A-D) 新奇環境であるオープンフィールド (A) での120分間自由に探索行動をさせ、移動距離 (B)、立ち上がり回数 (C)、中央区画での滞在時間 (D) を計測した。中央区画の滞在時間の増加は不安様行動低下の指標となる。

**(E-I)** 明暗選択テストでは、明箱と暗箱が連結したチャンバーをマウスに自由に探索させて (E)、総移動距離 (F)、明箱での滞在時間 (G)、明箱と暗箱を行き来した回数 (H)、最初に明箱に入るまでの潜時 (I) を計測した。明箱での滞在時間の増加と明箱に入るまでの潜時の減少は不安様行動の低下の指標となる。

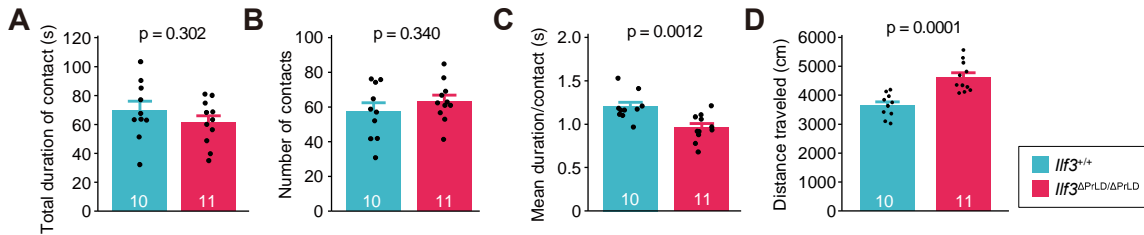
**(J-M)** 高架式十字型迷路の結果。壁のないオープンアームと壁のあるクローズドアームに入った回数の合計 (J)、オープンアームに入った回数の割合 (K)、総移動距離 (L)、オープンアームで滞在した時間の割合 (M) をそれぞれ測定した。

**(N、O)** ポーソルト強制水泳の結果。テスト1日目と2日目の不動時間の割合 (N)、総移動距離 (O) をそれぞれ測定した。

**(P)** 尾懸垂テストにおける不動時間の割合。*Ilf3<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>*マウスは*Ilf3<sup>+/+</sup>*マウスに比べて、テスト後半の5分間においてうつ様行動の指標となる不動時間の有意な増加を示した。

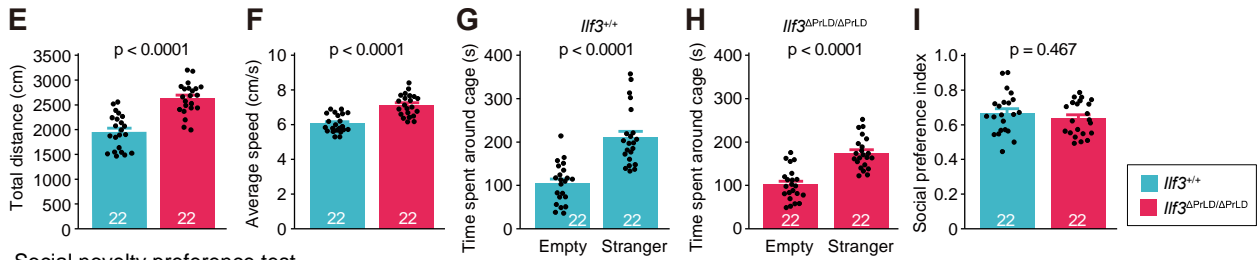
データは平均値±SEMで示す。n数は図中に記載。B-D、N-Pでは、two-way repeated measures ANOVAを用いた遺伝子型による主効果のp値を示す。F-Mでは、one-way ANOVAによるp値を示す。

Social interaction test in a novel environment

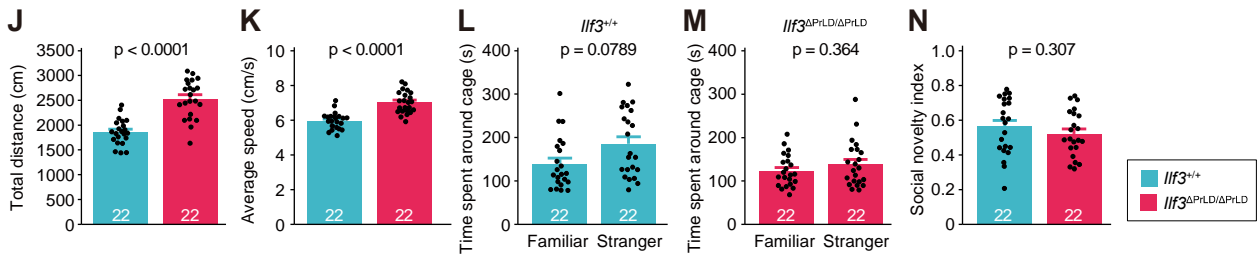


Three-chambered social approach test (100 lux)

Sociability test

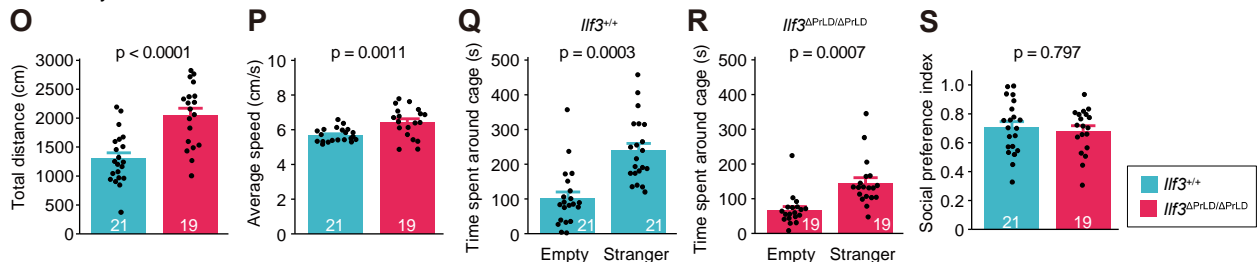


Social novelty preference test

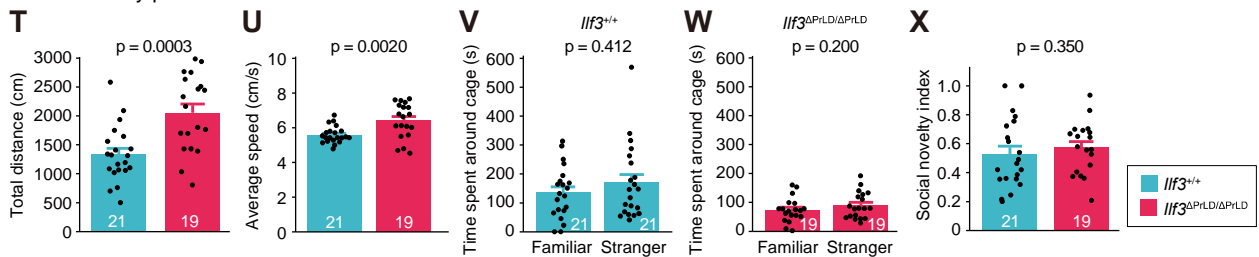


Three-chambered social approach test (5 lux)

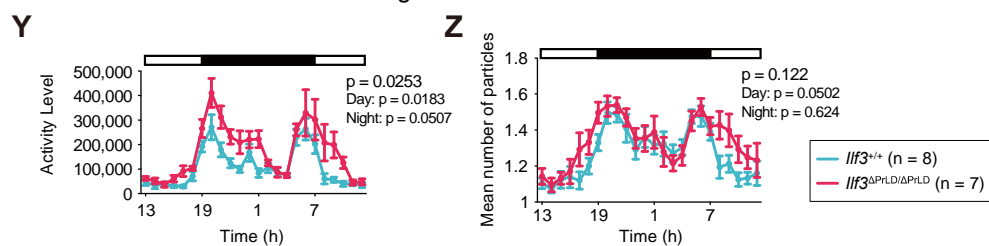
Sociability test



Social novelty preference test



Social interaction test in a home cage



**図14.  $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスは社会性テストにおいて社会性に異常は見られないが、多動性を示す**

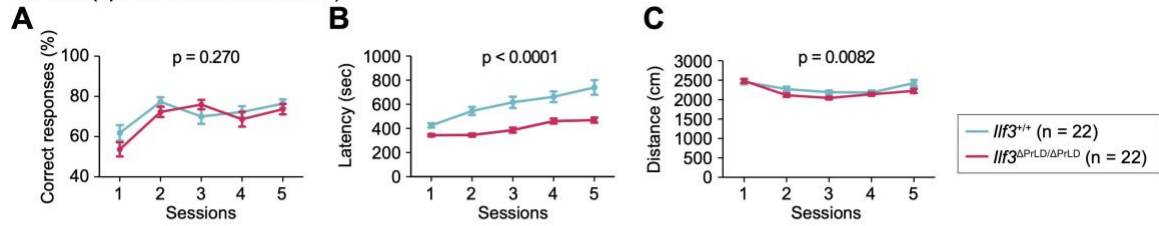
**(A-D)** 新奇環境における社会的行動テストの結果。同じ遺伝子型のマウスのペアを用いて、マウス同士が接触していた時間 (A)、接触した回数 (B)、接触1回当たりの持続時間 (C)、総移動距離 (D) をそれぞれ測定した。

**(E-X)** 100ルクス (E-N) および5ルクス (O-X) での3チャンバー社会的新規探索性テスト。社会性のテスト (E-I、O-S)、社会的新奇性嗜好テスト (J-N、T-X) の結果をそれぞれ示す。総移動距離 (E、J、O、T)、平均移動速度 (F、K、P、U)、 $Ilf3^{+/+}$ マウス (G、L、Q、V) および $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウス (H、M、R、W) がそれぞれのケージ (空、既知マウス、新奇マウス) の近傍で過ごした時間、社会的嗜好指数 (I、S)、社会的新奇性指数 (N、X) をそれぞれ測定した。社会的嗜好指数と社会的新奇性指数は、新奇マウスの入ったケージの近傍に滞在した時間と両方のケージの近傍に滞在した時間の比率として算出した。

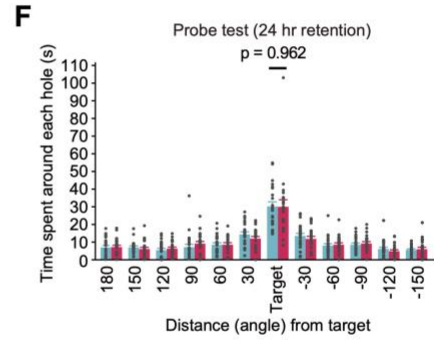
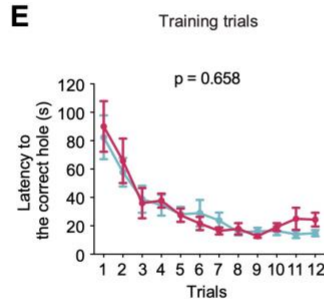
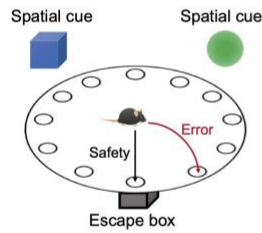
**(Y、Z)** ホームケージでの社会的行動テスト。白と黒のバーは、それぞれ明時間帯と暗時間帯を示す。7日間の実験を行ったうち、3日目から5日目の3日間のデータの平均を示す。活動量 (Y)、および2匹のマウス間の社会的相互作用の指標となる平均粒子数 (Z)。マウス同士が離れているときの粒子数は2、接近しているときの粒子数は1で表される。

データは平均値 $\pm$ SEMで示す。n数は図中に記載。A-Xでは、one-way ANOVAによるp値を示す。Y、Zでは、two-way repeated measures ANOVAを用いた遺伝子型による主効果のp値を示す。

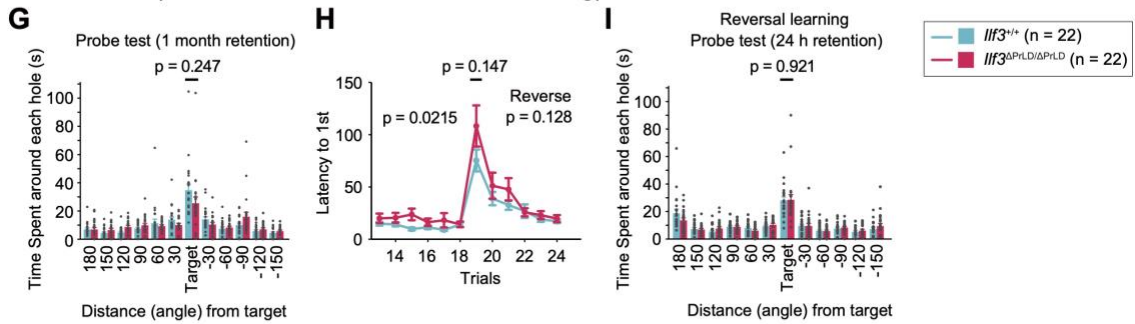
T-maze (spontaneous alternation)



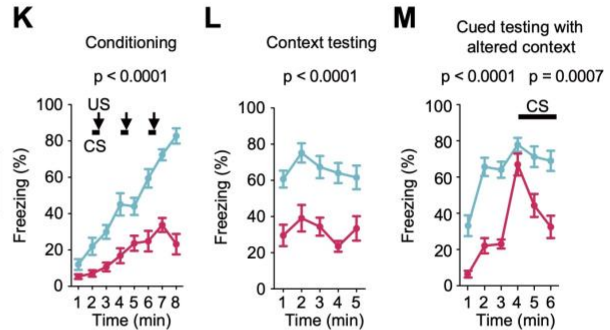
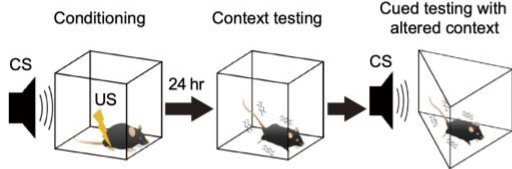
**D** Barnes maze



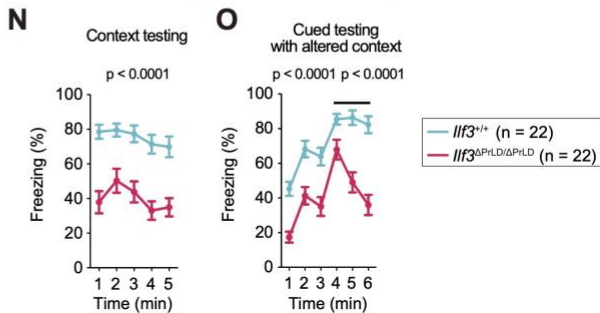
Barnes maze (1 month retention and reversal learning)



**J** Fear conditioning



Fear conditioning (1 month retention)



### 図15. $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスは空間学習・記憶は正常だが、恐怖条件付けにおける恐怖反応の低下を示す

(A-C) T字型迷路を用いた自発的交替課題の結果。左右を交替に選択した割合 (A)、セッション終了までにかかった時間 (B)、各セッションにおける総移動距離 (C) を測定した。 $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスは、 $Ilf3^{+/+}$ マウスと同レベルの作業記憶を示したが (A)、 $Ilf3^{+/+}$ マウスに比べて素早くセッションを終了させた (B、C)。

(D-I) 空間学習・記憶を評価するバーズ迷路テストの結果。トレーニングセッションにおける逃避ボックスが設置された正解の穴に辿り着くまでの時間 (E)、トレーニングから1日後 (F) および1ヶ月後 (G) に行ったプローブテストでの各穴近傍に滞在した時間と、その後に行った逆転学習 (H) およびそのプローブテストの結果 (I) を示す。 $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスは、 $Ilf3^{+/+}$ マウスと同等の空間記憶保持を示したが (F、G)、1ヶ月の記憶保持後の課題遂行能力の低下を示した (Hのセッション13-18)。ただし、その後に行った逆転学習の課題遂行および記憶保持に有意な変化は見られなかった (H、I)。

(J-O) 恐怖条件付けテストの結果。CSは条件刺激 (ブザー音)、USは恐怖反応を誘導する非条件刺激 (フットショック、FS) を示す。すくみ反応を、条件付けセッション (K)、FSを受けた場所に対する記憶テスト (L)、音に対する記憶テスト (M) でそれぞれ測定した。また、1ヶ月の記憶保持期間の後、再度FSを受けた場所に対する記憶テスト (N)、音に対する記憶テスト (O) を行い、すくみ反応を測定した。

K、M、Oの黒線は音の提示、Kでの矢印はFSの提示をそれぞれ示す。データは平均値  $\pm$ SEMで示す。n数は図中に記載。F、G、Hのセッション19、およびIでは、one-way ANOVA によるp値を示す。A-C、E、H、K-Oでは、two-way repeated measures ANOVAを用いた遺伝子型による主効果のp値を示す。



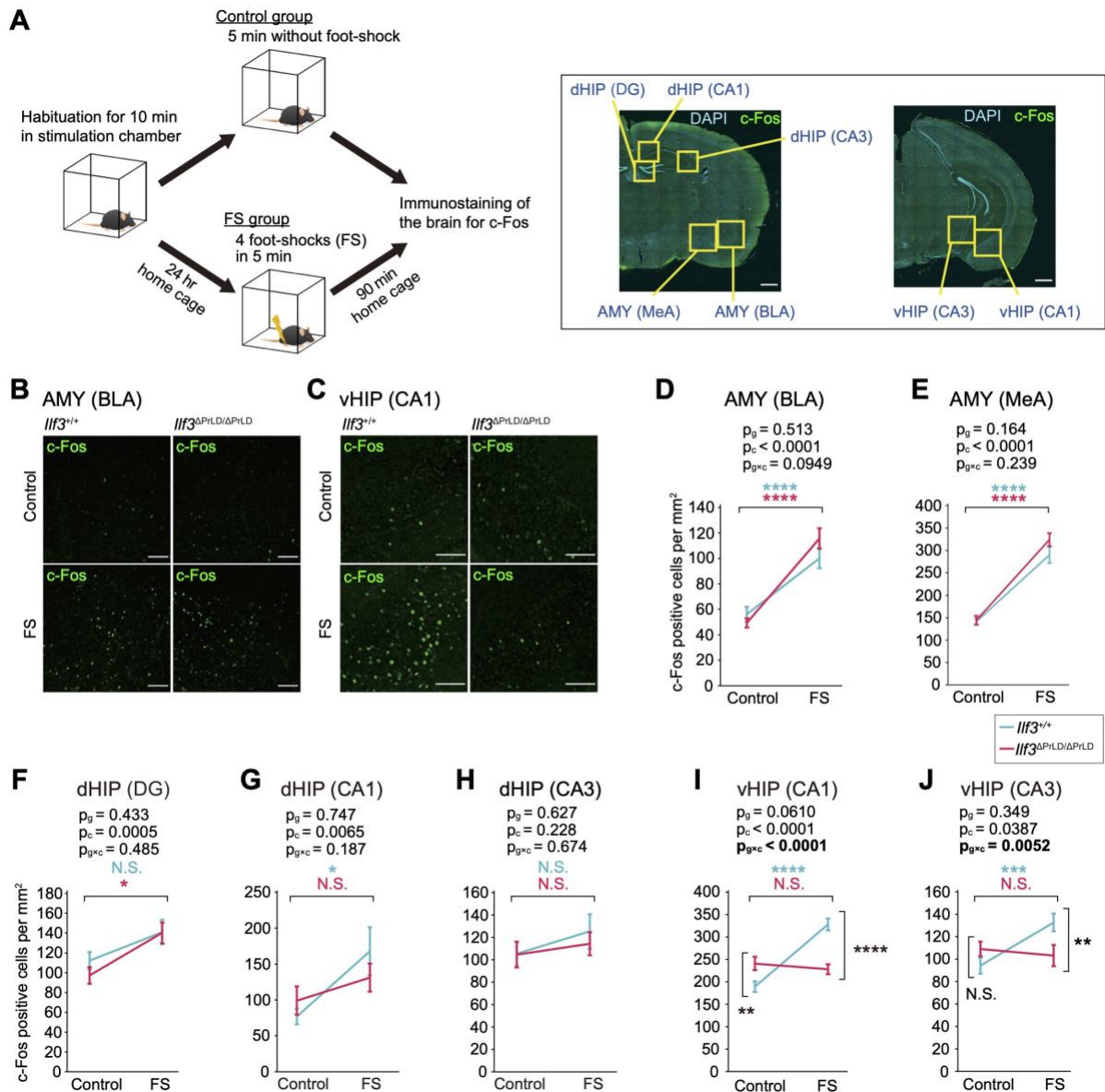


図16. *Iif3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスではFS（恐怖刺激）によるvHIPにおけるc-Fos発現上昇が失われる

(A) FS後の神経活動の指標であるc-Fos発現上昇を評価する免疫染色実験の概略図。右側のパネルは、DAPIとc-Fosの二重染色をした脳切片画像で、各脳領域を示す。MeA、medial amygdal；BLA、basolateral amygdala。スケールバー、1 mm。

(B、C) コントロール条件とWIRS負荷条件での*Iif3*<sup>+/+</sup>マウスと*Iif3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMYとvHIPのc-Fos免疫染色画像。スケールバー、100 μm。

(D-J) c-Fos陽性細胞の定量化の結果。データは、平均値±SEMで示す。各グループ4匹のマウスから得られた蛍光画像を用い、n数はそれぞれ、n = 33 (D)、45 (E)、40 (F)、48 (G)、39 (H)、80 (I)、35 (J)。データは、two-way ANOVAを用いて

解析した。遺伝子型 ( $p_g$ ) と刺激 (FSあり/なし) ( $p_c$ ) のそれぞれの主効果における  $p$  値、および遺伝子型と刺激間の交互作用 ( $p_{g \times c}$ ) における  $p$  値を示す。

D-Hでは、two-way ANOVAを行った後、Tukey-Kramer testを行った。\*\*\*\* $p < 0.0001$ 、\* $p < 0.05$ 、N.S.、有意差なし ( $p \geq 0.05$ )。I、Jでは、two-way ANOVAを行った後、交互作用が有意であったため、simple effect analysisを行った。\*\*\*\* $p < 0.0001$ 、\*\*\* $p < 0.001$ 、\*\* $p < 0.01$ 、N.S.、有意差なし ( $p \geq 0.05$ )。

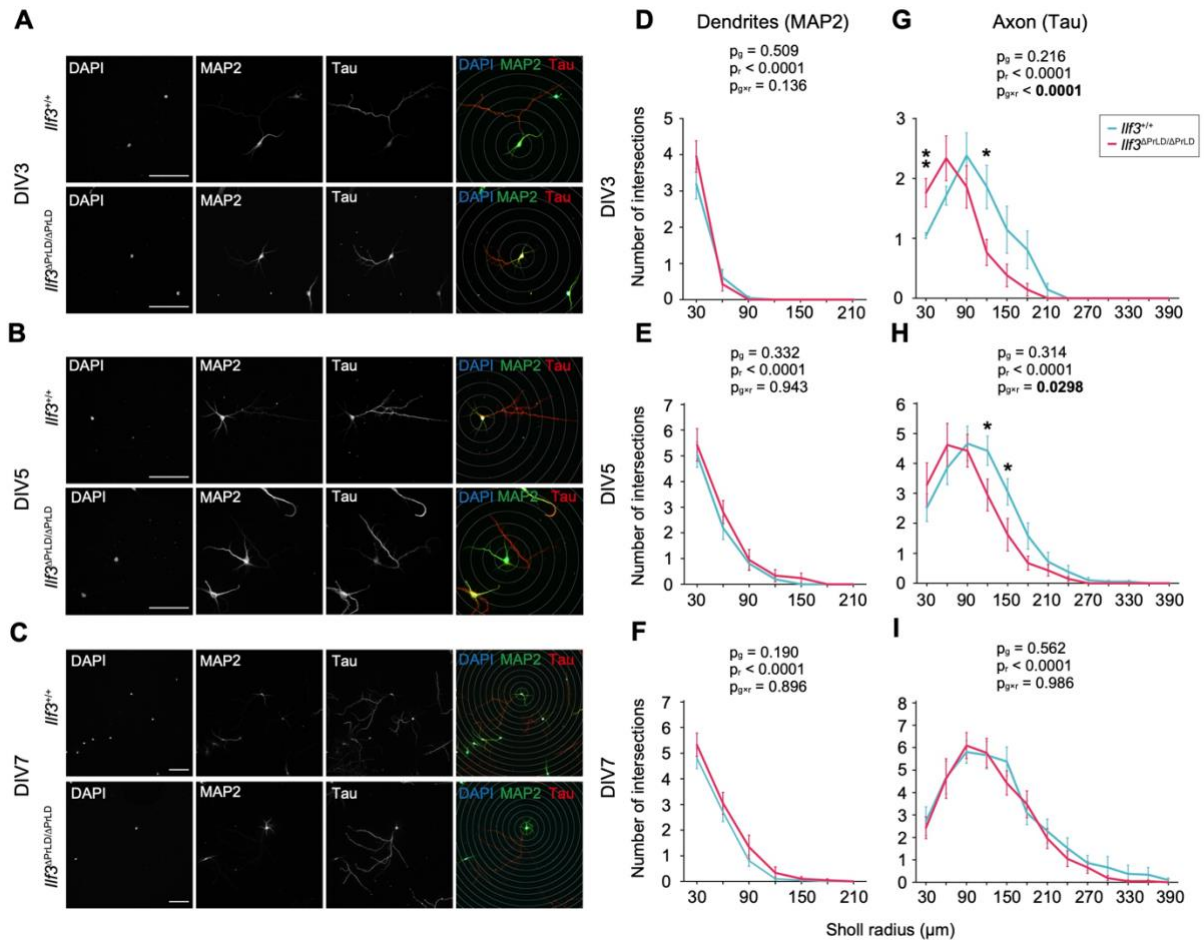
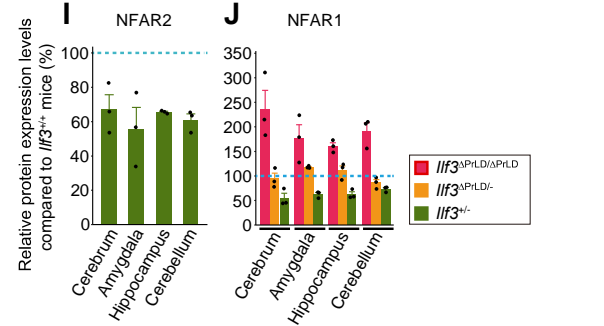
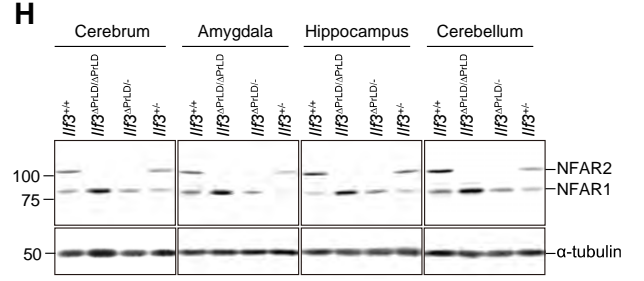
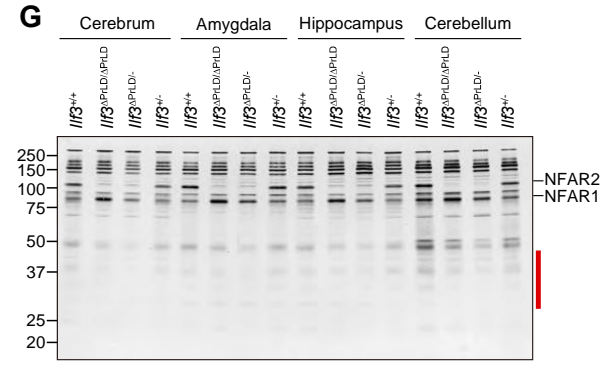
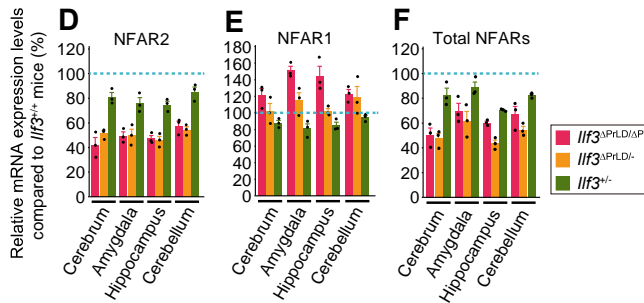
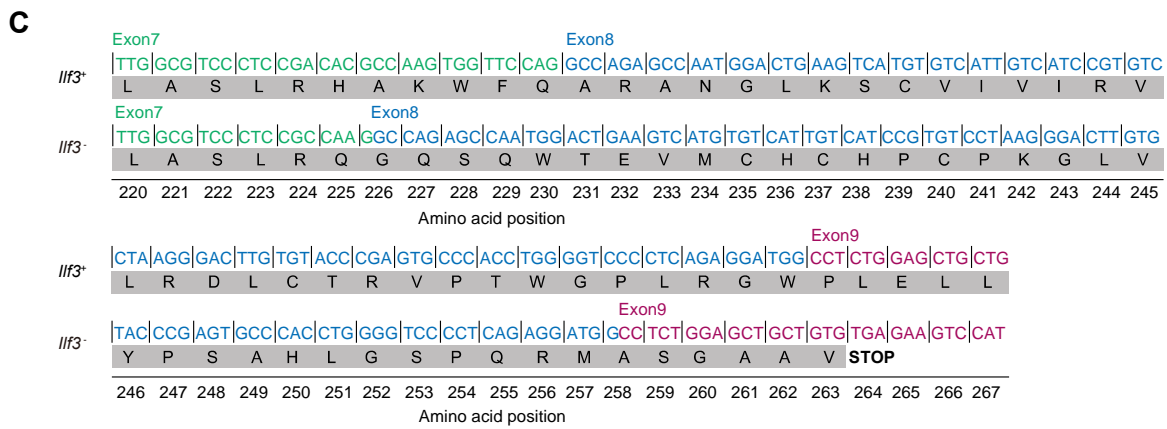
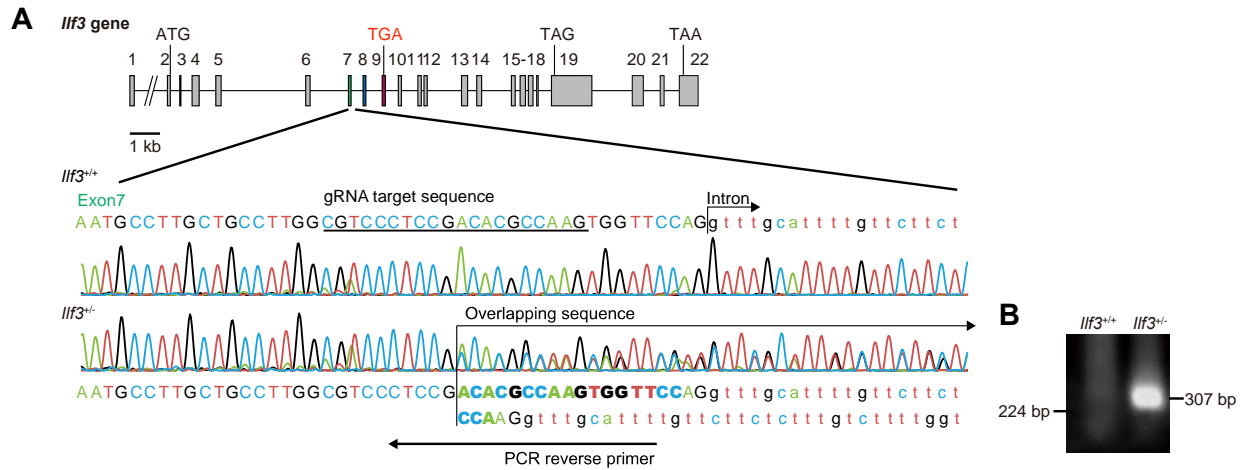


図17. *Ifl3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスのAMY由来神経初代培養細胞は軸索の初期発達遅延を示す

(A-C) *Ifl3*<sup>+/+</sup>、*Ifl3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>同腹胎仔のAMY由来神経初代培養細胞 [3 (A)、5 (B)、7 (C) days *in vitro* (DIV)] におけるDAPI、抗MAP2および抗Tau抗体による免疫染色画像。右側の重ね合わせ画像では、Sholl analysisに用いた30 μm間隔の同心円を示す。スケールバー、100 μm。

(D-I) AMY由来神経初代培養細胞 [3 (D、G)、5 (E、H)、7 (F、I) DIV] の樹状突起 (MAP2) (D-F) および軸索 (Tau) (G-I) のSholl analysisの定量結果。n = 21 (各群3匹の同腹胎仔からの細胞数)。データは、平均値±SEMで示す。データはtwo-way repeated measures ANOVAを用いて解析した。遺伝子型による主効果 ( $p_g$ )、Sholl analysisにおける半径による主効果 ( $p_r$ )、および遺伝子型と半径間の交互作用 ( $p_{g \times r}$ ) のp値を示す。G、Hでは、交互作用が優位であったため、two-way repeated ANOVAの後に simple effect analysisを行った。\*\* $p < 0.01$ 、\* $p < 0.05$ 。



## 図18. *Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスおよび*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスの作製

(A) *Ilf3*遺伝子構造およびエクソン7における塩基配列と*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスのシーケンス解析結果。図中の太字は、*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスにおける*Ilf3*<sup>+</sup>アレルと*Ilf3*<sup>-</sup>アレル間で異なる塩基配列を示す。*Ilf3*<sup>-</sup>アレルのエクソン7において14 bpが欠失することでフレームシフトが起こり、エクソン9に新たな終始コドンが形成された（遺伝子構造図中赤字で示したTGA）。Bにおいて*Ilf3*<sup>-</sup>アレルを検出するために行ったPCRで使用したリバープライマーを矢印で示した。

(B) Aで示したリバープライマーを使用したPCRの結果。

(C) *Ilf3*<sup>+</sup>と*Ilf3*<sup>-</sup>アレルのエクソン7-9における塩基配列およびコードされるアミノ酸配列。*Ilf3*<sup>-</sup>アレルのエクソン9で終始コドンが新たに生成された。

(D-F) *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>、および*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの各脳領域におけるNFAR2 (D)、NFAR1 (E)、およびトータルNFARs (F) mRNAの発現レベルをRT-qPCRによって調べた。データはGAPDH mRNAの発現レベルに対して正規化し、次に、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるこれらのmRNAの発現レベルと比較した。n = 3。

(G) *Ilf3*<sup>+/+</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>、および*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの各脳領域について、NFARsのN末端領域（ヒトILF3のアミノ酸配列8-343）に対するポリクローナル抗体を用いた*Ilf3*遺伝子産物のウェスタンブロッティング結果。赤い線は、*Ilf3*<sup>-</sup>アレルから生成されるタンパク質由来のバンドが現れると予想される領域を示すが、*Ilf3*<sup>-</sup>アレル特異的なバンドは認められなかった。

(H) *Ilf3*<sup>+/+</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>、および*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの各脳領域について、NFARsに対するモノクローナル抗体とα-tubulin抗体（コントロール）を用いたウェスタンブロッティング。

(I, J) *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>、*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>、および*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの各脳領域について、NFAR2 (I) およびNFAR1 (J) タンパク質の発現レベルを、α-tubulinの発現レベルによって正規化し、次に、*Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるこれらタンパク質の発現レベルと比較した。n = 3。

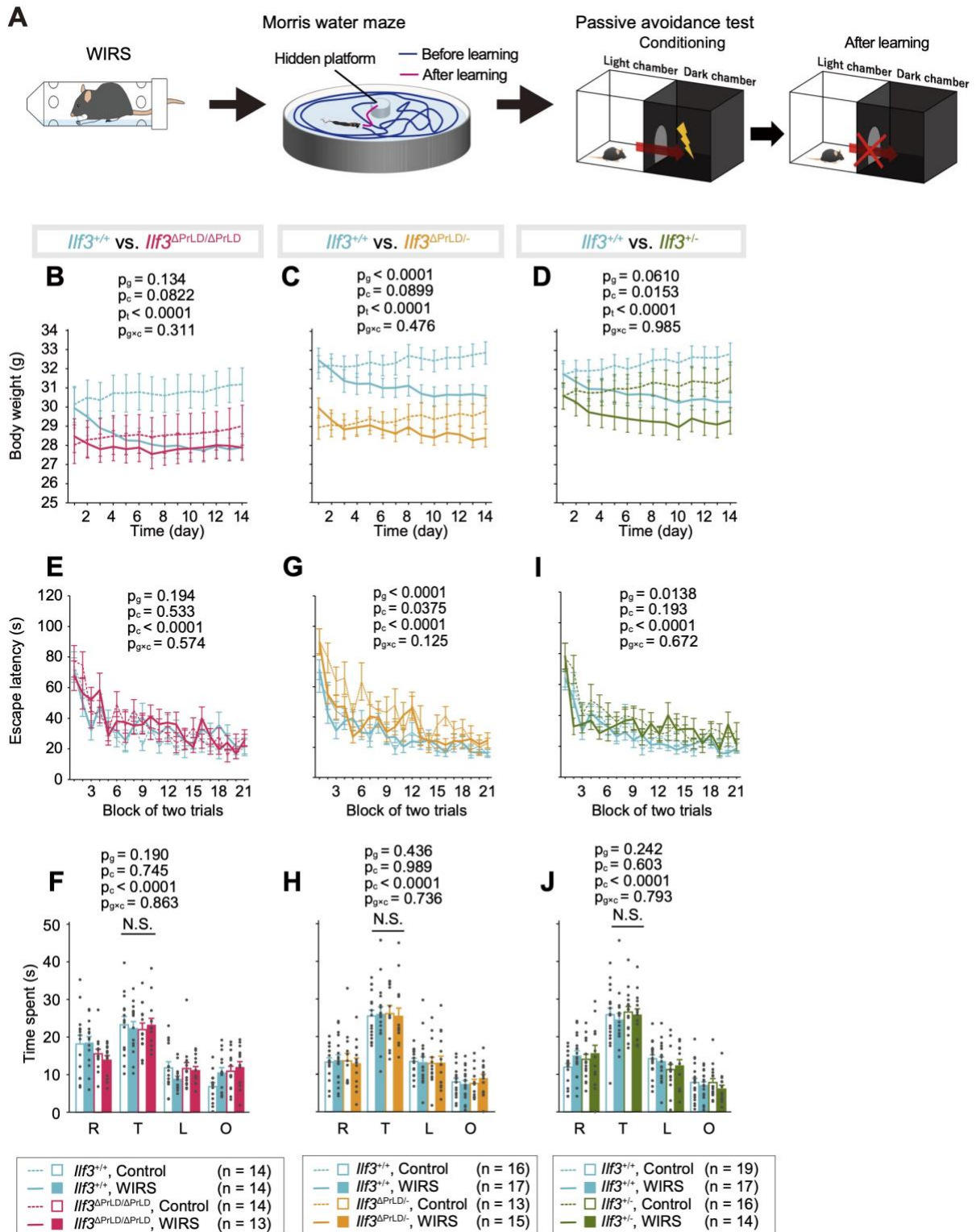


図19. *Ilf3*の変異はマウスの空間記憶にほとんど影響を及ぼさない

(A) WIRS負荷後の空間学習・記憶（モリス水迷路）と恐怖条件付け学習・記憶（受動的回避）のテストの概略図。受動的回避テストの結果は図20に示す。

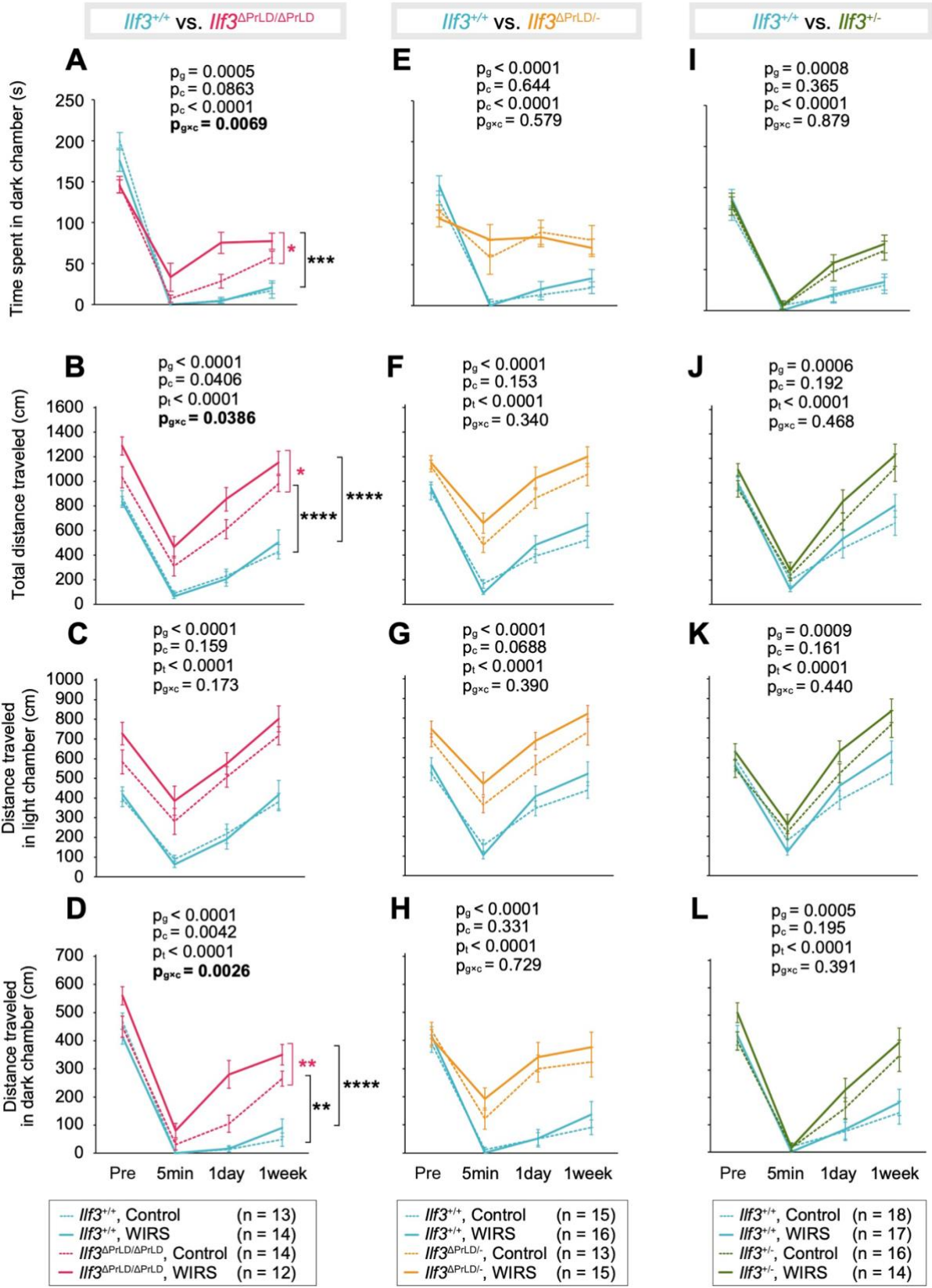
**(B-D)**  $Ilf3^{+/+}$ および $Ilf3$ 変異マウスのWIRS負荷による体重変化。 $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$  (A)、 $Ilf3^{\Delta PrLD/-}$  (B)、 $Ilf3^{+/-}$  (C) の各変異マウスと $Ilf3^{+/+}$ マウスの比較結果を示す。

**(E、F)**  $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスのモリス水迷路の結果。 $Ilf3^{+/+}$ マウスとの比較を示す。トレーニングセッションにおけるプラットフォームに辿り着くまでの時間 (E)、最後のトレーニングの1日後に実施したプローブテストにおける、プールの各象限に滞在した時間 (F)。R、右；T、ターゲット；L、左；O、ターゲットと反対のエリア。

**(G、H)**  $Ilf3^{\Delta PrLD/-}$ マウスのモリス水迷路の結果。

**(I、J)**  $Ilf3^{+/-}$ マウスのモリス水迷路の結果。

データは、平均 $\pm$ SEMで示した。また、three-way repeated ANOVAを用いて統計解析を行った。遺伝子型による主効果 ( $p_g$ )、コンディション (WIRSあり/なし) による主効果 ( $p_c$ )、トライアルによる主効果 ( $p_t$ )、象限による主効果 ( $p_q$ )、および遺伝子型とコンディション間の交互作用 ( $p_{g \times c}$ ) のp値を示す。





**図20.  $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスは、WIRS負荷による恐怖記憶の更なる低下を示す**

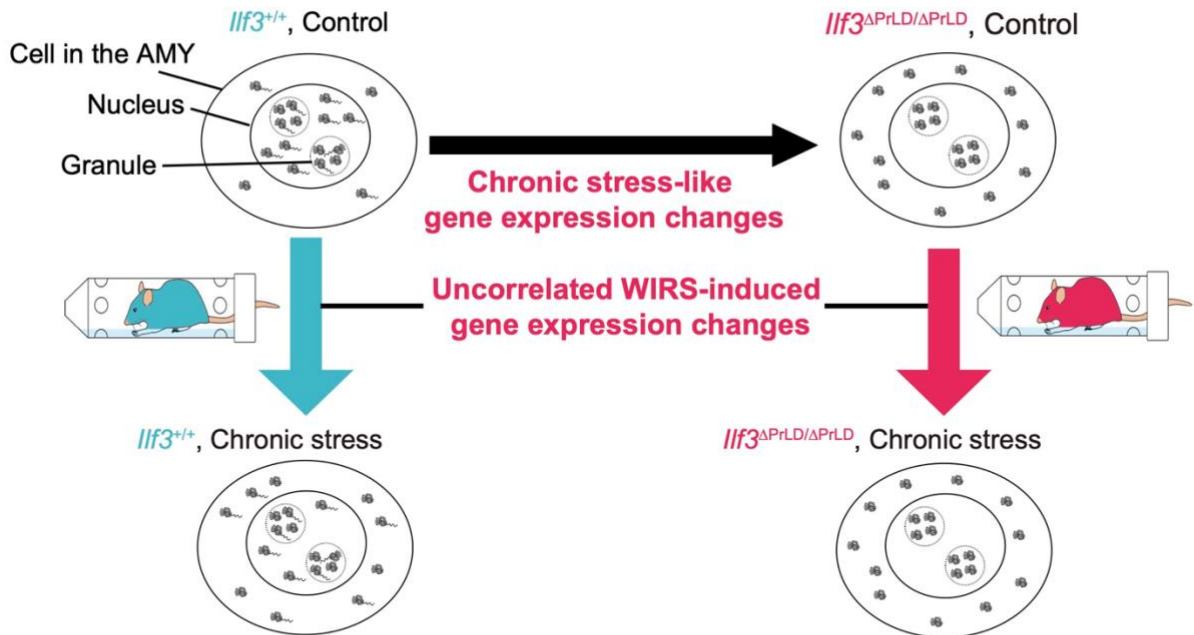
**(A-D)**  $Ilf3^{\Delta PrLD/\Delta PrLD}$ マウスの受動的回避テストの結果。 $Ilf3^{+/+}$ マウスとの比較を示す。フットショック (FS) を提示する前 (Pre)、FSから5分後、1日後、1週間後にテストを行った。暗室に滞在した時間 (A)、総移動距離 (B)、明室での移動距離 (C)、暗室での移動距離 (D) を示す。

**(E-H)**  $Ilf3^{\Delta PrLD/-}$ マウスの受動的回避テストの結果。

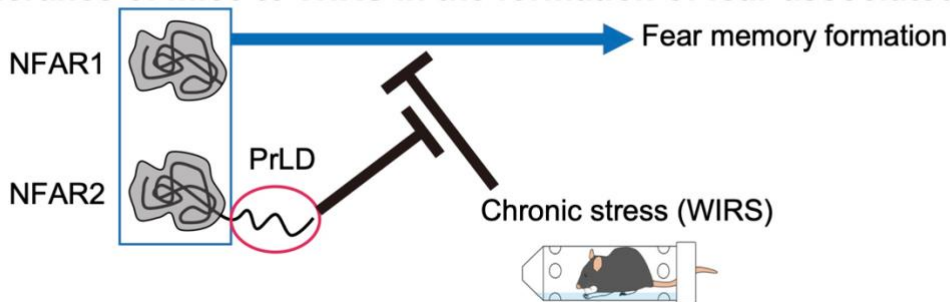
**(I-L)**  $Ilf3^{+/-}$ マウスの受動的回避テストの結果。

データは、平均 $\pm$ SEMで示す。また、three-way repeated ANOVAを用いて統計解析を行った。遺伝子型による主効果 ( $p_g$ )、コンディション (WIRSあり/なし) による主効果 ( $p_c$ )、トライアルによる主効果 ( $p_t$ )、および遺伝子型とコンディション間の交互作用 ( $p_{g \times c}$ ) のp値を示す。A、B、Dでは、交互作用が有意であったため、three-way repeated ANOVAの後にsimple effect analysisを行った。\*\*\*\* $p < 0.0001$ 、\*\*\* $p < 0.001$ 、\*\* $p < 0.01$ 、\* $p < 0.05$ 。

**1. WIRS-sensitive nuclear retention of NFARs in the AMY**  
**2. Regulation of WIRS-induced gene expression changes**



**3. Tolerance of mice to WIRS in the formation of fear-associated memories**



**図21. 本研究で明らかにしたNFAR2 PrLDのマウスにおける生理的意義**

本研究結果のモデル図を示す。本研究では、マウスにおけるNFAR2 PrLDが持つ以下の生理機能を明らかにした。

- 1) NFARsの慢性ストレス感受性核局在の制御：*Iif3*<sup>+/+</sup>マウスにおいてNFARsは核に局在し、慢性ストレス（WIRS）によって細胞質へ移行する。一方、*Iif3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスでは、NFARsの核局在化はWIRS無しでも既に低下し、WIRS依存性の細胞質移行も失われる。
- 2) 慢性ストレス依存性mRNA発現・翻訳制御：*Iif3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスはWIRS無しでも慢性ストレス様の遺伝子発現変化を示し、WIRS負荷時の遺伝子発現変化は*Iif3*<sup>+/+</sup>マウスのそれとは相関が認められないほど異なる。

3) 恐怖記憶の慢性ストレス耐性付与：PrLDの有無に関係なくNFARsは用量依存的に恐怖記憶の形成に関与する。NFARsにPrLDがない場合、恐怖記憶形成はWIRSによって阻害されるが、その阻害はPrLDの挿入によって抑圧される。

表 1. *Ilf3<sup>+/+</sup>* マウスにおける WIRS 負荷による mRNA 発現変化 (RNA-seq) (p 値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3<sup>+/+</sup></i> WIRS / <i>Ilf3<sup>+/+</sup></i> Control) | p value  | q value     | Gene description   |
|------------------------|-------------|---|---|----------|-------------|--|
| ENSMUST00000047206.6   | Plekhh2     | 90.85723364                                       | -3.029056543  | 4.60E-15 | 1.46E-10    | Mus musculus pleckstrin homology domain containing, family H (with MyTH4 domain) member 2 (Plekhh2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_177606) |
| ENSMUST00000190686.6   | Srrm2       | 766.0929782                                       | -1.029693479  | 2.53E-12 | 4.02E-08    | Mus musculus serine/arginine repetitive matrix 2 (Srrm2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001368687)   |
| ENSMUST00000088621.10  | Srrm2       | 743.8299405                                       | -1.02739008   | 4.34E-12 | 4.59E-08    | Mus musculus serine/arginine repetitive matrix 2 (Srrm2), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_175229)  |
| ENSMUST00000037023.8   | Rps29       | 527.1270176                                       | 0.966181742   | 7.92E-08 | 0.000629024 | Mus musculus ribosomal protein S29 (Rps29), mRNA. (from RefSeq NM_009093)  |
| ENSMUST00000121270.7   | Leng8       | 185.4540817                                       | -1.238227118  | 3.10E-07 | 0.001968476 | Leng8 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000037472.12  | Leng8       | 182.6899278                                       | -1.197065083  | 8.34E-07 | 0.004413918 | Mus musculus leukocyte receptor cluster (LRC) member 8 (Leng8), mRNA. (from RefSeq NM_172736)  |
| ENSMUST00000114050.7   | Tmsb10      | 139.5316721                                       | 1.329109502   | 2.55E-06 | 0.008993171 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_025284)   |

|                       |         |             |             |          |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|-------------|----------|-------------|--|
| ENSMUST00000114049.1  | Tmsb10  | 139.5316721 | 1.329109502 | 2.55E-06 | 0.008993171 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001039392)  |
| ENSMUST00000114048.1  | Tmsb10  | 139.5316721 | 1.329109502 | 2.55E-06 | 0.008993171 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190327)  |
| ENSMUST00000112996.8  | Tsc22d3 | 57.70465135 | 1.79435278  | 1.11E-05 | 0.035397311 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)   |
| ENSMUST00000055738.11 | Tsc22d3 | 66.69572283 | 1.626658634 | 1.41E-05 | 0.040212727 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)  |
| ENSMUST00000123898.1  | Tsc22d3 | 56.37766891 | 1.794930569 | 1.52E-05 | 0.040212727 | Tsc22d3 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000082405.1  | mt-Co2  | 37283.97864 | 0.468704651 | 1.67E-05 | 0.040349345 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the bimetallic center of the catalytic subunit 1 (By similarity). (from UniProt Q7J CZ1) |
| ENSMUST00000059080.6  | Rps21   | 494.4352061 | 0.729072705 | 1.78E-05 | 0.040349345 | Mus musculus ribosomal protein S21 (Rps21), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_025587)  |

|                      |        |             |              |          |             |  |
|----------------------|--------|-------------|--------------|----------|-------------|--|
| ENSMUST0000029911.11 | Pnistr | 189.1139109 | -1.014744664 | 2.82E-05 | 0.058483008 | Mus musculus PNN interacting serine/arginine-rich (Pnistr), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_025669)    |
| ENSMUST0000098238.8  | Pnistr | 187.4522361 | -1.021641803 | 2.95E-05 | 0.058483008 | Mus musculus PNN interacting serine/arginine-rich (Pnistr), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001369189) |
| ENSMUST00000182149.7 | Prrc2c | 370.3628747 | -0.800823424 | 3.21E-05 | 0.059953058 | Prrc2c (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000109488.7 | Snhg11 | 86.28769435 | -1.364387304 | 3.51E-05 | 0.061890083 | Mus musculus small nucleolar RNA host gene 11 (Snhg11), mRNA. (from RefSeq NM_175692)                              |
| ENSMUST00000182660.7 | Prrc2c | 395.0938912 | -0.7819282   | 4.14E-05 | 0.067536634 | Mus musculus proline-rich coiled-coil 2C (Prrc2c), mRNA. (from RefSeq NM_001081290)                                |
| ENSMUST00000182593.7 | Prrc2c | 383.0865551 | -0.784250487 | 4.35E-05 | 0.067536634 | Prrc2c (from geneSymbol)   |
| ENSMUST0000028016.15 | Prrc2c | 394.709499  | -0.779549968 | 4.47E-05 | 0.067536634 | Prrc2c (from geneSymbol)   |
| ENSMUST0000082409.1  | mt-Co3 | 54288.77472 | 0.45580171   | 5.37E-05 | 0.077504114 | Subunits I, II and III form the functional core of the enzyme complex (By similarity). (from UniProt Q7JCX7)       |
| ENSMUST00000182064.8 | Ank2   | 1176.145401 | -0.546246029 | 5.66E-05 | 0.07812063  | Mus musculus ankyrin 2, brain (Ank2), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001327938)                       |
| ENSMUST00000182078.8 | Ank2   | 1162.138331 | -0.546780584 | 6.14E-05 | 0.081207648 | Mus musculus ankyrin 2, brain (Ank2), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001327939)                       |

|                       |         |             |             |            |             |   |
|-----------------------|---------|-------------|-------------|------------|-------------|---|
| ENSMUST00000235196.1  | Fth1    | 1753.394775 | 0.488818888 | 8.83E-05   | 0.107907447 | Mus musculus ferritin heavy polypeptide 1 (Fth1), transcript variant 2, non-coding RNA. (from RefSeq NR_073181)     |
| ENSMUST0000025563.7   | Fth1    | 1753.394775 | 0.488818888 | 8.83E-05   | 0.107907447 | Mus musculus ferritin heavy polypeptide 1 (Fth1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010239)               |
| ENSMUST0000041096.3   | PeskIn  | 1091.503932 | 0.544474942 | 9.28E-05   | 0.109120953 | Mus musculus proprotein convertase subtilisin/kexin type 1 inhibitor (PeskIn), mRNA. (from RefSeq NM_013892)        |
| ENSMUST00000223999.1  | Rps24   | 782.6900222 | 0.578569462 | 0.00011671 | 0.132368543 | Mus musculus ribosomal protein S24 (Rps24), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_207635)                     |
| ENSMUST00000225023.1  | Rps24   | 780.4102248 | 0.576725353 | 0.00012268 | 0.134343541 | Mus musculus ribosomal protein S24 (Rps24), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_207634)                     |
| ENSMUST00000120509.7  | Sgk1    | 75.83731708 | 1.305108678 | 0.00013402 | 0.134428837 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST0000020145.11  | Sgk1    | 69.08678067 | 1.352188242 | 0.00014454 | 0.134428837 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST00000082424.10 | Selenop | 606.7395534 | 0.647726059 | 0.00014609 | 0.134428837 | Mus musculus selenoprotein P (Selenop), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001042613)                      |

表 2. PrLD 欠損による mRNA 発現変化 (RNA-seq) (p 値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | p value    | q value     | Gene description   |
|------------------------|-------------|---|--|------------|-------------|--|
| ENSMUST00000047206.6   | Plekhh2     | 75.00597764                                       | -1.97608929  | 7.11E-06   | 0.183275157 | Mus musculus pleckstrin homology domain containing, family H (with MyTH4 domain) member 2 (Plekhh2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_177606)   |
| ENSMUST00000037023.8   | Rps29       | 368.3339165                                       | 0.765242713  | 0.0004626  | 0.960041061 | Mus musculus ribosomal protein S29 (Rps29), mRNA. (from RefSeq NM_009093)  |
| ENSMUST00000082418.1   | mt-Nd5      | 5184.660164                                       | 0.602614051  | 0.00109994 | 0.960041061 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD82) |
| ENSMUST00000082411.1   | mt-Nd3      | 3914.386189                                       | 0.494883951  | 0.00255697 | 0.960041061 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7GIP5) |



|                      |         |             |             |            |             |   |
|----------------------|---------|-------------|-------------|------------|-------------|---|
| ENSMUST00000144337.1 | Tmsb10  | 46.31176336 | 1.4574166   | 0.00263584 | 0.960041061 | Tmsb10 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000114050.7 | Tmsb10  | 96.62442439 | 1.067944714 | 0.00327279 | 0.960041061 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_025284)  |
| ENSMUST00000114049.1 | Tmsb10  | 96.62442439 | 1.067944714 | 0.00327279 | 0.960041061 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001039392)   |
| ENSMUST00000114048.1 | Tmsb10  | 96.62442439 | 1.067944714 | 0.00327279 | 0.960041061 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190327)   |
| ENSMUST00000082405.1 | mt-Co2  | 28114.07211 | 0.44672808  | 0.00329093 | 0.960041061 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the bimetallic center of the catalytic subunit 1 (By similarity). (from UniProt Q7JCZ1) |
| ENSMUST00000128231.1 | Dad1    | 49.94163046 | 1.363432956 | 0.00408526 | 0.960041061 | Mus musculus defender against cell death 1 (Dad1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010015)  |
| ENSMUST00000022781.7 | Dad1    | 49.94163046 | 1.363432956 | 0.00408526 | 0.960041061 | Mus musculus defender against cell death 1 (Dad1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001113358)   |
| ENSMUST00000082421.1 | mt-Cytb | 15461.46473 | 0.442248183 | 0.00766042 | 0.960041061 | Component of the ubiquinol-cytochrome c reductase complex (complex III or cytochrome b-c1 complex), which is a respiratory chain that generates an electrochemical potential coupled to ATP synthesis (By similarity). (from UniProt Q7JCZ3)  |

|                       |         |             |              |            |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|------------|-------------|--|
| ENSMUST00000201120.1  | Pomp    | 40.21978996 | 1.370225779  | 0.00818026 | 0.960041061 | Pomp (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000172734.7  | Aldh7a1 | 69.47005532 | 1.038701803  | 0.00985223 | 0.960041061 | Belongs to the aldehyde dehydrogenase family. (from UniProt G3UYR8)  |
| ENSMUST00000093955.11 | Supt4a  | 28.94327458 | 1.646948011  | 0.00997837 | 0.960041061 | Mus musculus SPT4A, DSIF elongation factor subunit (Supt4a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_009296) |
| ENSMUST00000201376.3  | Pomp    | 38.6200706  | 1.350598113  | 0.01014261 | 0.960041061 | Pomp (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000188097.1  | Gmppa   | 16.2778565  | 2.239619947  | 0.01026525 | 0.960041061 | Gmppa (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000061739.8  | Pcp4    | 55.00779705 | 1.110723871  | 0.01060177 | 0.960041061 | Mus musculus Purkinje cell protein 4 (Pcp4), mRNA. (from RefSeq NM_008791)                                       |
| ENSMUST00000082392.1  | mt-Nd1  | 13091.83619 | 0.428930465  | 0.01222018 | 0.960041061 | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q4JFN6)  |
| ENSMUST00000059539.4  | Nap115  | 314.579733  | 0.529133104  | 0.01329357 | 0.960041061 | Mus musculus nucleosome assembly protein 1-like 5 (Nap115), mRNA. (from RefSeq NM_021432)                        |
| ENSMUST00000114372.2  | Hcfc1   | 122.4063036 | -0.800679603 | 0.01408897 | 0.960041061 | Hcfc1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000099172.4  | Kif5a   | 3903.103135 | 0.402034473  | 0.01542401 | 0.960041061 | Mus musculus kinesin family member 5A (Kif5a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001039000)            |
| ENSMUST00000217895.1  | Kif5a   | 3903.103135 | 0.402034473  | 0.01542401 | 0.960041061 | Mus musculus kinesin family member 5A (Kif5a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_008447)               |
| ENSMUST00000088552.6  | My19    | 13.31290401 | 2.305556946  | 0.0158652  | 0.960041061 | Mus musculus myosin, light polypeptide 9, regulatory (My19), mRNA. (from RefSeq NM_172118)                       |
| ENSMUST0000026094.5   | Hdgf13  | 251.1870364 | 0.615881798  | 0.01641467 | 0.960041061 | Enhances DNA synthesis and may play a role in cell proliferation (By similarity). (from UniProt Q9JMG7)          |

|                       |         |             |              |            |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|------------|-------------|--|
| ENSMUST00000033761.12 | Hcfc1   | 120.2450615 | -0.786076707 | 0.01657729 | 0.960041061 | Mus musculus host cell factor C1 (Hcfc1), mRNA. (from RefSeq NM_008224)  |
| ENSMUST00000120154.8  | Hcrtr1  | 17.53127736 | 2.03421835   | 0.01708037 | 0.960041061 | Mus musculus hypocretin (orexin) receptor 1 (Hcrtr1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001163027)   |
| ENSMUST00000030562.12 | Hcrtr1  | 17.53127736 | 2.03421835   | 0.01708037 | 0.960041061 | Mus musculus hypocretin (orexin) receptor 1 (Hcrtr1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_198959)  |
| ENSMUST00000119423.7  | Hcrtr1  | 17.53127736 | 2.03421835   | 0.01708037 | 0.960041061 | Moderately selective excitatory receptor for orexin-A and, with a lower affinity, for orexin-B neuropeptide. Seems to be exclusively coupled to the G(q) subclass of heteromeric G proteins, which activates the phospholipase C mediated signaling cascade (By similarity). (from UniProt P58307) |
| ENSMUST00000164887.2  | Hcrtr1  | 17.53127736 | 2.03421835   | 0.01708037 | 0.960041061 | Moderately selective excitatory receptor for orexin-A and, with a lower affinity, for orexin-B neuropeptide. Seems to be exclusively coupled to the G(q) subclass of heteromeric G proteins, which activates the phospholipase C mediated signaling cascade (By similarity). (from UniProt P58307) |
| ENSMUST00000049294.3  | Snrpd2  | 66.13367428 | 0.95640765   | 0.01741206 | 0.960041061 | Mus musculus small nuclear ribonucleoprotein D2 (Snrpd2), mRNA. (from RefSeq NM_026943)  |
| ENSMUST00000174518.7  | Aldh7a1 | 79.86320073 | 0.860448716  | 0.01766526 | 0.960041061 | Mus musculus aldehyde dehydrogenase family 7, member A1 (Aldh7a1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001127338)  |

表3. WIRSとPrLD欠損の複合効果によるmRNA発現の変化 (RNA-seq) (p値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD</sup> / <i>ΔPrLD</i> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | p value  | q value     | Gene description   |
|------------------------|-------------|---|--|----------|-------------|--|
| ENSMUST00000082419.1   | mt-Nd6      | 1259.504309                                       | -2.305439305   | 1.29E-12 | 2.69E-08    | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q7JCY4)  |
| ENSMUST00000028846.6   | Dusp2       | 65.62140111                                       | 3.039899025  | 7.73E-08 | 0.000806922 | Mus musculus dual specificity phosphatase 2 (Dusp2), mRNA. (from RefSeq NM_010090)                             |
| ENSMUST00000093209.3   | Hba-a1      | 203.6328178                                       | 1.649645159  | 1.19E-07 | 0.000827795 | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 1 (Hba-a1), mRNA. (from RefSeq NM_008218)                           |
| ENSMUST00000093207.3   | Hba-a2      | 193.0746323                                       | 1.627587076  | 2.29E-07 | 0.001196009 | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 2 (Hba-a2), mRNA. (from RefSeq NM_001083955)                        |
| ENSMUST00000055619.4   | Hic1        | 19.0529828  | 3.488752283  | 4.40E-06 | 0.018372303 | Mus musculus hypermethylated in cancer 1 (Hic1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010430)           |
| ENSMUST00000223886.1   | Ube2t       | 21.41350483                                       | 3.479641024  | 1.65E-05 | 0.029238076 | Ube2t (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000064285.14  | Glicc1      | 220.8708532                                       | 1.34717275   | 1.69E-05 | 0.029238076 | Mus musculus glucocorticoid induced transcript 1 (Glicc1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_133236) |
| ENSMUST00000037023.8   | Rps29       | 324.8266194                                       | 1.371465904  | 1.80E-05 | 0.029238076 | Mus musculus ribosomal protein S29 (Rps29), mRNA. (from RefSeq NM_009093)                                      |
| ENSMUST00000037472.12  | Leng8       | 83.23833656                                       | -1.794080587   | 1.89E-05 | 0.029238076 | Mus musculus leukocyte receptor cluster (LRC) member 8 (Leng8), mRNA. (from RefSeq NM_172736)                  |

|                      |         |             |             |          |             |  |
|----------------------|---------|-------------|-------------|----------|-------------|--|
| ENSMUST00000233045.1 | Ankrd12 | 397.2558165 | 1.245959851 | 1.97E-05 | 0.029238076 | Ankrd12 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST0000053020.7  | Neur11b | 63.28028705 | 2.03047432  | 2.18E-05 | 0.029238076 | Mus musculus neuralized E3 ubiquitin protein ligase 1B (Neur11b), mRNA. (from RefSeq NM_001081656)                           |
| ENSMUST0000027687.7  | Ube2t   | 21.54352655 | 3.332049103 | 2.18E-05 | 0.029238076 | Mus musculus ubiquitin-conjugating enzyme E2T (Ube2t), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_026024)                   |
| ENSMUST0000120411.8  | Fam107a | 119.2732889 | 1.528088441 | 2.29E-05 | 0.029238076 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST0000031651.14 | Pan3    | 157.2123065 | 1.766002168 | 2.50E-05 | 0.029238076 | Mus musculus PAN3 poly(A) specific ribonuclease subunit (Pan3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_028291)          |
| ENSMUST0000121887.7  | Fam107a | 118.7345947 | 1.518326367 | 2.56E-05 | 0.029238076 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001360337) |
| ENSMUST0000036070.14 | Fam107a | 118.7345947 | 1.518326367 | 2.56E-05 | 0.029238076 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_183187)    |
| ENSMUST0000164607.8  | Dtnb    | 298.4039105 | 1.256289612 | 2.68E-05 | 0.029238076 | Mus musculus dystrobrevin, beta (Dtnb), transcript variant 4, non-coding RNA. (from RefSeq NR_027870)                        |
| ENSMUST0000077930.12 | Dtnb    | 298.4039105 | 1.256289612 | 2.68E-05 | 0.029238076 | Mus musculus dystrobrevin, beta (Dtnb), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_007886)                                  |
| ENSMUST0000164578.8  | Dtnb    | 301.8117581 | 1.24349812  | 2.95E-05 | 0.029238076 | Mus musculus dystrobrevin, beta (Dtnb), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001162465)                               |

|                       |         |             |              |          |             |   |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|----------|-------------|---|
| ENSMUST00000121270.7  | Leng8   | 86.53947655 | -1.749496403 | 2.95E-05 | 0.029238076 | Leng8 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000082409.1  | mt-Co3  | 38842.67747 | 1.222467092  | 3.09E-05 | 0.029238076 | Subunits I, II and III form the functional core of the enzyme complex (By similarity). (from UniProt Q7JCX7)  |
| ENSMUST00000079869.12 | Znrf2   | 75.78469427 | 2.253525963  | 3.13E-05 | 0.029238076 | Mus musculus zinc and ring finger 2 (Znrf2), mRNA. (from RefSeq NM_199143)  |
| ENSMUST00000101637.10 | Dtnb    | 299.4701224 | 1.245122846  | 3.22E-05 | 0.029238076 | Mus musculus dystrobrevin, beta (Dtnb), transcript variant 3, non-coding RNA. (from RefSeq NR_027869)   |
| ENSMUST00000082405.1  | mt-Co2  | 26919.84167 | 1.251492067  | 4.45E-05 | 0.038708362 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the bimetallic center of the catalytic subunit 1 (By similarity). (from UniProt Q7JCZ1) |
| ENSMUST00000037115.8  | Med30   | 48.85622924 | 2.127681959  | 4.67E-05 | 0.03898197  | Mus musculus mediator complex subunit 30 (Med30), mRNA. (from RefSeq NM_027212)   |
| ENSMUST00000108333.7  | Asph    | 45.95078234 | 1.937618144  | 5.11E-05 | 0.039476103 | Mus musculus aspartate-beta-hydroxylase (Asph), transcript variant 7, mRNA. (from RefSeq NM_001177853)  |
| ENSMUST00000109689.8  | Triobbp | 20.55095655 | 2.770415879  | 5.29E-05 | 0.039476103 | Mus musculus TRIO and F-actin binding protein (Triobbp), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_138579)  |

|                       |         |             |             |            |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|-------------|------------|-------------|--|
| ENSMUST00000109690.10 | Triobp  | 20.55095655 | 2.770415879 | 5.29E-05   | 0.039476103 | Mus musculus TRIO and F-actin binding protein (Triobp), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001039156)   |
| ENSMUST00000197361.4  | Rps27   | 163.0506356 | 1.365000841 | 5.64E-05   | 0.040635259 | Rps27 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000109272.8  | Mier3   | 269.0129139 | 1.690238484 | 6.56E-05   | 0.044746967 | Mus musculus MIER family member 3 (Mier3), mRNA. (from RefSeq NM_172593)   |
| ENSMUST00000212806.1  | Mt2     | 83.27289978 | 1.528794165 | 6.64E-05   | 0.044746967 | Mt2 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000108335.7  | Asph    | 41.36599073 | 2.033835974 | 7.36E-05   | 0.048015994 | Mus musculus aspartate-beta-hydroxylase (Asph), transcript variant 9, mRNA. (from RefSeq NM_001177854)   |
| ENSMUST00000137133.1  | Fam107a | 70.94534075 | 1.737887476 | 7.78E-05   | 0.049213413 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000183077.7  | Neur11b | 53.77753057 | 2.090259196 | 8.77E-05   | 0.053842183 | Neur11b (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000108334.7  | Asph    | 46.96764195 | 1.819399624 | 9.38E-05   | 0.055948137 | Mus musculus aspartate-beta-hydroxylase (Asph), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_001177852)   |
| ENSMUST00000082411.1  | mt-Nd3  | 3502.246725 | 1.155274834 | 0.00010188 | 0.059089685 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7GIP5) |
| ENSMUST00000112458.2  | Kat6b   | 117.7472507 | 1.410265891 | 0.00011205 | 0.063231961 | Kat6b (from geneSymbol)  |

表4. *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスでWIRSによってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term     | Number of genes | Gene symbols   | Direction of mRNA expression change | Fold enrichment | p value  | FDR      |          |
|---------------------|-------------|-----------------|--|-------------------------------------|-----------------|----------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY        | Ribosome    | 71              | Fau, Mrpl10, Mrpl20, Mrps12, Mrps18a, Rpl10, Rpl11, Rpl12, Rpl13, Rpl13a, Rpl14, Rpl17, Rpl18, Rpl18a, Rpl19, Rpl21, Rpl22l1, Rpl23, Rpl23a, Rpl26, Rpl27a, Rpl28, Rpl29, Rpl3, Rpl31, Rpl32, Rpl34, Rpl35, Rpl35a, Rpl36, Rpl36a, Rpl36al, Rpl37, Rpl37a, Rpl38, Rpl39, Rpl4, Rpl6, Rpl7, Rpl8, Rpl9, Rplp0, Rplp1, Rplp2, Rps10, Rps11, Rps12, Rps14, Rps15, Rps15a, Rps16, Rps17, Rps19, Rps2, Rps20, Rps21, Rps24, Rps25, Rps26, Rps27, Rps27a, Rps27rt, Rps29, Rps3, Rps3al, Rps4x, Rps6, Rps7, Rps8, Rpsa, Uba52   | Up                                  | 15.76           | 1.86E-69 | 3.16E-67 |          |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Translation | 79              | Eef1a1, Eef1e1, Eif3g, Eif4a2, Fau, Gm6133, Hars, Mapkap1, Mrpl10, Mrpl20, Mrpl43, Mrps12, Mrps18a, Mrps23, Rpl10, Rpl11, Rpl12, Rpl13, Rpl13a, Rpl14, Rpl17, Rpl18, Rpl18a, Rpl19, Rpl21, Rpl22l1, Rpl23, Rpl23a, Rpl26, Rpl27a, Rpl28, Rpl29, Rpl3, Rpl31, Rpl32, Rpl34, Rpl35, Rpl35a, Rpl36, Rpl36a, Rpl36al, Rpl37, Rpl37a, Rpl38, Rpl39, Rpl4, Rpl6, Rpl7, Rpl8, Rpl9, Rpl9-ps6, Rps11, Rps12, Rps14, Rps15, Rps15a, Rps16, Rps17, Rps19, Rps2, Rps20, Rps21, Rps24, Rps26, Rps27, Rps27a, Rps27rt, Rps29, Rps3, Rps3al, Rps4x, Rps6, Rps7, Rps8, Rpsa, Sars, Slc25a25, Slc25a4, Uba52 | 79                                  | Up              | 10.15    | 5.75E-56 | 7.68E-53 |



|                  |                           |    |   |    |       |          |          |
|------------------|---------------------------|----|---|----|-------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY     | Oxidative phosphorylation | 38 | Atp5b, Atp5e, Atp5g1, Atp5h, Atp5i, Atp5o, Atp6v0c, Atp6v1g1, Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, mt-Atp6, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, Ndufa1, Ndufa13, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb4, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Uqcrh | Up | 8.80  | 3.82E-25 | 3.24E-23 |
| KEGG_PATHWAY     | Parkinson's disease       | 37 | Atp5b, Atp5e, Atp5g1, Atp5h, Atp5o, Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, Cyes, mt-Atp6, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, Ndufa1, Ndufa13, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb4, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Slc25a4, Uqcrh            | Up | 7.99  | 6.68E-23 | 3.79E-21 |
| GOTERM_BP_DIRECT | Nucleosome assembly       | 27 | Hist1h2bc, Hist1h2be, Hist1h2bf, Hist1h2bg, Hist1h2bh, Hist1h2bk, Hist1h2bn, Hist1h2bp, Hist1h2bq, Hist1h2br, Hist1h4a, Hist1h4b, Hist1h4c, Hist1h4d, Hist1h4f, Hist1h4h, Hist1h4i, Hist1h4j, Hist1h4k, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2, Kat6b, Nap1l5, Smarca2                        | Up | 13.37 | 6.17E-22 | 4.12E-19 |
| KEGG_PATHWAY     | Huntington's disease      | 38 | Atp5b, Atp5e, Atp5g1, Atp5h, Atp5o, Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, Cyes, Dlg4, mt-Atp6, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, Ndufa1, Ndufa13, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb4, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Polr2c, Slc25a4, Sod1, Uqcrh        | Up | 6.18  | 2.01E-19 | 8.56E-18 |

|                  |   |    |  |    |       |          |          |
|------------------|---|----|--|----|-------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY     | Alzheimer's disease                       | 36 | Apoe, Atp5b, Atp5e, Atp5g1, Atp5h, Atp5o, Calm3, Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, Cyps, mt-Atp6, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, Ndufa1, Ndufa13, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb4, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Uqcrh | Up | 6.55  | 3.08E-19 | 1.05E-17 |
| KEGG_PATHWAY     | Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) | 29 | Atf4, Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, Cyps, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, Ndufa1, Ndufa13, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb4, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Uqcrh   | Up | 5.94  | 2.62E-14 | 7.41E-13 |
| GOTERM_BP_DIRECT | DNA methylation on cytosine               | 14 | Hist1h4a, Hist1h4b, Hist1h4c, Hist1h4d, Hist1h4f, Hist1h4h, Hist1h4i, Hist1h4j, Hist1h4k, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2   | Up | 22.54 | 1.06E-14 | 4.63E-12 |
| KEGG_PATHWAY     | Systemic lupus erythematosus              | 25 | H2afj, Hist1h2bc, Hist1h2be, Hist1h2bf, Hist1h2bg, Hist1h2bh, Hist1h2bk, Hist1h2bn, Hist1h2bp, Hist1h2bq, Hist1h2br, Hist1h4a, Hist1h4b, Hist1h4c, Hist1h4d, Hist1h4f, Hist1h4h, Hist1h4i, Hist1h4j, Hist1h4k, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2                  | Up | 5.47  | 1.48E-11 | 3.46E-10 |
| KEGG_PATHWAY     | Alcoholism                                | 29 | Atf4, Calm3, Gnas, Gng13, H2afj, Hist1h2bc, Hist1h2be, Hist1h2bf, Hist1h2bg, Hist1h2bh, Hist1h2bk, Hist1h2bn, Hist1h2bp, Hist1h2bq, Hist1h2br, Hist1h4a, Hist1h4b, Hist1h4c, Hist1h4d, Hist1h4f, Hist1h4h, Hist1h4i, Hist1h4j, Hist1h4k, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3c1, Hist2h3c2  | Up | 4.62  | 1.63E-11 | 3.46E-10 |

|                  |  |    |   |      |       |          |          |
|------------------|--|----|---|------|-------|----------|----------|
| GOTERM_BP_DIRECT | Chromatin silencing at rDNA                | 14 | Hist1h4a, Hist1h4b, Hist1h4c, Hist1h4d, Hist1h4f, Hist1h4h, Hist1h4i, Hist1h4j, Hist1h4k, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2  | Up   | 13.11 | 2.99E-11 | 4.00E-09 |
| KEGG_PATHWAY     | Cardiac muscle contraction                 | 13 | Cox4i1, Cox5a, Cox5b, Cox6b1, Cox6c, Cox7b, Cox7c, Cox8a, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, Uqcrrh   | Up   | 5.43  | 3.61E-06 | 6.14E-05 |
| GOTERM_BP_DIRECT | Oxidation-reduction process                | 31 | Acad5b, Asph, Cyes, Degs1, Ethe1, Fdx2, Fth1, mt-Co1, mt-Co2, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, Ndufa1, Ndufa3, Ndufa6, Ndufab1, Ndufb3, Ndufb5, Ndufb7, Ndufb8, Ndufb9, Ndufc2, Ndufs2, Ndufs5, Nxn, Prx12b, Selenow, Smox, Sod1, Spr, Uqcrrh   | Up   | 2.36  | 2.24E-05 | 1.42E-03 |
| GOTERM_BP_DIRECT | Regulation of transcription, DNA-templated | 63 | Akap8l, Arid1a, Arid4b, Asxl1, Atrx, Belaf1, Brd4, Brwd1, Chd4, Chd6, Ddx17, Dmd, Egr1, Ell2, Fezf2, Gm14391, Gm14412, Gm14443, Gm38394, Hcfc1, Hdac7, Hnf4a, Igsf1, Ilf3, Jmjd1c, Kdm1b, Kdm5a, Kmt2a, Kmt2d, Myt1, Nfat5, Nfrikb, Pan2, Pem1, Ppargc1b, Rbm39, Rnf20, Rreb1, Safb, Safb2, Setdb1, Son, Sp4, Srsf5, Supt6, Tcf4, Tenm1, Thrap3, Trps1, Trrap, Usp16, Usp21, Usp34, Ylpm1, Zfp219, Zfp318, Zfp329, Zfp37, Zfp40, Zfp445, Zfp758, Zfp934, Zfp950 | Down | 1.74  | 8.87E-06 | 6.76E-03 |
| GOTERM_BP_DIRECT | mRNA processing                            | 17 | Akap8l, Cdk12, Celf2, Clasp, Cpsf1, Hnrmpu, Pan2, Pdcd11, Prpf40b, Prpf4b, Rbm39, Son, Srrm2, Srsf5, Supt6, Thoc2, Thrap3   | Down | 3.28  | 6.83E-05 | 2.08E-02 |

表5. PrLD欠損によってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term                                   | Number of genes | Gene symbols  | Direction of mRNA expression change | Fold enrichment | p value  | FDR      |
|---------------------|---|-----------------|---|-------------------------------------|-----------------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY        | Oxidative phosphorylation                 | 11              | Chka, Cox7c, mt-Atp6, mt-Co2, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, mt-Nd5, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10                               | Up                                  | 16.45           | 4.58E-10 | 2.32E-08 |
| KEGG_PATHWAY        | Parkinson's disease                       | 11              | Cox7c, mt-Atp6, mt-Co2, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, mt-Nd5, Ndufa10, Ndufb7, Ube2j2, Uqcrl10                             | Up                                  | 15.35           | 9.09E-10 | 2.32E-08 |
| KEGG_PATHWAY        | Alzheimer's disease                       | 7               | Cox7c, mt-Atp6, mt-Co2, mt-Cytb, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10   | Up                                  | 8.22            | 1.50E-04 | 2.55E-03 |
| KEGG_PATHWAY        | Huntington's disease                      | 7               | Cox7c, mt-Atp6, mt-Co2, mt-Cytb, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10   | Up                                  | 7.35            | 2.76E-04 | 3.52E-03 |
| KEGG_PATHWAY        | Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) | 6               | Cox7c, mt-Co2, mt-Cytb, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10  | Up                                  | 7.94            | 7.52E-04 | 7.67E-03 |
| KEGG_PATHWAY        | Metabolic pathways                        | 15              | Aldh7a1, Chka, Cox7c, Dad1, Gmppa, Lpcat1, mt-Atp6, mt-Co2, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, mt-Nd5, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10 | Up                                  | 2.46            | 1.07E-03 | 9.12E-03 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Oxidation-reduction process               | 11              | Aldh7a1, Asph, Higd2a, mt-Co2, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd3, mt-Nd5, Ndufa10, Ndufb7, Uqcrl10                              | Up                                  | 4.99            | 5.14E-05 | 1.53E-02 |
| KEGG_PATHWAY        | Cardiac muscle contraction                | 4               | Cox7c, mt-Co2, mt-Cytb, Uqcrl10   | Up                                  | 10.80           | 5.43E-03 | 3.96E-02 |

表6. WIRSとPrLD欠損の複合効果によってmRNA発現が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term                      | Number of genes | Gene symbols   | Direction of mRNA expression change | Fold enrichment | p value  | FDR      |
|---------------------|------------------------------|-----------------|--|-------------------------------------|-----------------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY        | Ribosome                     | 53              | Mmps12, Rpl10, Rpl12, Rpl13, Rpl13a, Rpl14, Rpl17, Rpl18, Rpl18a, Rpl19, Rpl21, Rpl23a, Rpl26, Rpl27a, Rpl29, Rpl3, Rpl30, Rpl31, Rpl32, Rpl34, Rpl35, Rpl35a, Rpl36, Rpl36a, Rpl36al, Rpl37, Rpl37a, Rpl38, Rpl39, Rpl9, Rplp1, Rps10, Rps11, Rps12, Rps14, Rps15, Rps18, Rps19, Rps2, Rps20, Rps21, Rps24, Rps25, Rps26, Rps27, Rps27rt, Rps29, Rps4x, Rps5, Rps6, Rps7, Rpsa, Uba52   | Up                                  | 11.377931       | 2.60E-41 | 6.22E-39 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Translation                  | 59              | Eef1b2, Eef1e1, Eif3g, Eif4e, Gm1808, Gm2000, Mmps12, Mtrf11, Qars, Rpl10, Rpl12, Rpl13, Rpl13a, Rpl14, Rpl17, Rpl18, Rpl18a, Rpl19, Rpl21, Rpl23a, Rpl26, Rpl27a, Rpl29, Rpl3, Rpl31, Rpl32, Rpl34, Rpl35, Rpl35a, Rpl36, Rpl36a, Rpl36al, Rpl37, Rpl37a, Rpl38, Rpl39, Rpl9, Rps11, Rps12, Rps14, Rps15, Rps18, Rps18-ps5, Rps18-ps6, Rps19, Rps2, Rps20, Rps21, Rps24, Rps26, Rps27, Rps29, Rps4x, Rps5, Rps6, Rps7, Rpsa, Uba52, Ubg | Up                                  | 7.7142299       | 2.86E-34 | 2.96E-31 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Regulation of gene silencing | 10              | Hist1h3a, Hist1h3b, Hist1h3c, Hist1h3e, Hist1h3g, Hist1h3h, Hist1h3i, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2   | Up                                  | 31.480495       | 1.86E-12 | 1.29E-09 |

|                  |                              |    |  |    |           |          |          |
|------------------|------------------------------|----|--|----|-----------|----------|----------|
| GOTERM_BP_DIRECT | Nucleosome assembly          | 15 | Chrac1, Hist1h3a, Hist1h3b, Hist1h3c, Hist1h3e, Hist1h3g, Hist1h3h, Hist1h3i, Hist1h4i, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2, Kat6b                      | Up | 5.7370996 | 3.35E-07 | 1.16E-04 |
| KEGG_PATHWAY     | Oxidative phosphorylation    | 16 | Atp5l, Chka, Cox6a1, mt-Atp6, mt-Atp8, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd2, mt-Nd3, mt-Nd4, mt-Nd4l, mt-Nd5, Uqcrl0  | Up | 4.55      | 1.97E-06 | 1.57E-04 |
| KEGG_PATHWAY     | Alcoholism                   | 18 | Gngl3, Grin2d, H2afj, Hist1h3a, Hist1h3b, Hist1h3c, Hist1h3e, Hist1h3g, Hist1h3h, Hist1h3i, Hist1h4i, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2, Hras, Scarf2 | Up | 3.37      | 2.21E-05 | 1.32E-03 |
| KEGG_PATHWAY     | Parkinson's disease          | 20 | Cox6a1, Dusp1, Kif5a, Kif5b, Kif5c, mt-Atp6, mt-Atp8, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd2, mt-Nd3, mt-Nd4, mt-Nd4l, mt-Nd5, Scarf2, Uba52, Uqcrl0          | Up | 2.91      | 5.30E-05 | 2.54E-03 |
| KEGG_PATHWAY     | Systemic lupus erythematosus | 14 | H2afj, Hist1h3a, Hist1h3b, Hist1h3c, Hist1h3e, Hist1h3g, Hist1h3h, Hist1h3i, Hist1h4i, Hist1h4m, Hist1h4n, Hist2h3b, Hist2h3c1, Hist2h3c2                              | Up | 3.64      | 1.17E-04 | 4.00E-03 |

|                  |                              |    |  |      |       |          |          |
|------------------|------------------------------|----|--|------|-------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY     | Huntington's disease         | 20 | Cox6a1, Harbi1, Ift57, Kif5a, Kif5b, Kif5c, mt-Atp6, mt-Atp8, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd2, mt-Nd3, mt-Nd4, mt-Nd4l, mt-Nd5, Taf4, Uqcr10                         | Up   | 2.54  | 3.10E-04 | 6.74E-03 |
| KEGG_PATHWAY     | Alzheimer's disease          | 23 | Adam10, Axin2, Cox6a1, Grin2d, Harbi1, Hras, Kif5a, Kif5b, Kif5c, mt-Atp6, mt-Atp8, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, mt-Nd1, mt-Nd2, mt-Nd3, mt-Nd4, mt-Nd4l, mt-Nd5, Scarf2, Uqcr10 | Up   | 2.31  | 3.77E-04 | 6.81E-03 |
| KEGG_PATHWAY     | Cardiac muscle contraction   | 10 | Asph, Cacng7, Cox6a1, mt-Co1, mt-Co2, mt-Co3, mt-Cytb, Ryr2, Slc8a1, Uqcr10  | Up   | 4.42  | 3.99E-04 | 6.81E-03 |
| GOTERM_BP_DIRECT | Canonical glycolysis         | 6  | Eno1, Eno1b, Eno2, Gapdh, Pfkfp, Pkm   | Down | 41.47 | 2.33E-07 | 1.91E-04 |
| KEGG_PATHWAY     | Glycolysis / Gluconeogenesis | 8  | Eno1, Eno1b, Eno2, Gapdh, Ldha, Ldhb, Pfkfp, Pkm   | Down | 11.42 | 5.29E-06 | 5.58E-04 |
| KEGG_PATHWAY     | Carbon metabolism            | 9  | Aco2, Eno1, Eno1b, Eno2, Gapdh, Mdh1, Mdh2, Pfkfp, Pkm   | Down | 7.12  | 3.34E-05 | 2.35E-03 |
| KEGG_PATHWAY     | Amphetamine addiction        | 6  | Camk2a, Gria2, Gria3, Maoa, Prkcg, Stx1a   | Down | 8.32  | 7.08E-04 | 2.49E-02 |
| KEGG_PATHWAY     | Pyruvate metabolism          | 5  | Ldha, Ldhb, Mdh1, Mdh2, Pkm  | Down | 10.87 | 1.06E-03 | 2.84E-02 |

表7. WIRS、PrLD欠失、WIRSとPrLD欠損の複合効果によるmRNA発現の変化 (図9A-9Cに関連) (一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|---|--|---|---|
| ENSMUST00000211073.1   | Arhgef4     | 0  | 1.9322786128  | 1.478083027  | 1.60161345  | Arhgef4 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000074556.6   | H2afj       | 0  | 1.87668335  | 1.084000578  | 1.922533831   | Mus musculus H2A histone family, member J (H2afj), mRNA. (from RefSeq NM_177688)  |
| ENSMUST00000150462.7   | Trp53i11    | 0  | 1.854053225   | 1.080376125  | 1.965392695   | Trp53i11 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000124648.7   | Tesc        | 0  | 1.831431103   | 0.854698205  | 1.788263586   | Tesc (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000021204.3   | Nxn         | 0  | 1.79740372  | 1.066406513  | 2.687434559   | Mus musculus nucleoredoxin (Nxn), mRNA. (from RefSeq NM_008750)   |
| ENSMUST00000123898.1   | Tsc22d3     | 0  | 1.794930569   | -0.534634695   | 0.776907644   | Tsc22d3 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000112996.8   | Tsc22d3     | 0  | 1.79435278  | -0.403914643   | 0.787390073   | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)  |
| ENSMUST00000153744.1   | Fkbp5       | 0  | 1.712251917   | 1.680258222  | 2.555290228   | Contains 1 PP1ase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |
| ENSMUST00000209536.1   | Tmem160     | 0  | 1.656740189   | 1.600969893  | 3.350333254   | Tmem160 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000160703.1   | Gjb6        | 0  | 1.632210031   | 0.382814806  | 1.406803313   | One gap junction consists of a cluster of closely packed pairs of transmembrane channels, the connexons, through which materials of low MW diffuse from one cell to a neighboring cell (By similarity). (from UniProt E0CX48) |



|                       |         |   |             |              |             |   |
|-----------------------|---------|---|-------------|--------------|-------------|---|
| ENSMUST00000055738.11 | Tsc22d3 | 0 | 1.626658634 | -0.473791935 | 0.851512509 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)   |
| ENSMUST00000039380.8  | Gjb6    | 0 | 1.555173173 | 0.510114293  | 1.397532004 | Mus musculus gap junction protein, beta 6 (Gjb6), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001271663)  |
| ENSMUST00000081497.12 | Pop5    | 0 | 1.50748229  | 1.157827842  | 2.160652027 | Mus musculus processing of precursor 5, ribonuclease P/MRP family ( <i>S. cerevisiae</i> ) (Pop5), mRNA. (from RefSeq NM_026398)  |
| ENSMUST00000135455.1  | Pop5    | 0 | 1.50748229  | 1.157827842  | 2.160652027 | Component of ribonuclease P, a protein complex that generates mature tRNA molecules by cleaving their 5'-ends. Also a component of RNase MRP (By similarity). (from UniProt Q9DB28) |
| ENSMUST00000028199.11 | Tor1b   | 0 | 1.479818139 | 0.896882201  | 1.663133507 | Mus musculus torsin family 1, member B (Tor1b), mRNA. (from RefSeq NM_133673)   |
| ENSMUST00000099689.4  | Gm13889 | 0 | 1.415075688 | 0.33527069   | 1.186963649 | Gm13889 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000031304.13 | Tesc    | 0 | 1.414357393 | 0.617231799  | 1.231779296 | Mus musculus tescalcin (Tesc), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_021344)  |
| ENSMUST00000220519.1  | Crippa  | 0 | 1.364854813 | 1.319484105  | 1.799603373 | Mus musculus CDP-L-ribitol pyrophosphorylase A (Crippa), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001289504)   |
| ENSMUST00000077191.6  | Ethe1   | 0 | 1.361518042 | 1.312490153  | 1.133862419 | Mus musculus ethylmalonic encephalopathy 1 (Ethe1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_023154)   |

|                      |          |   |             |              |             |   |
|----------------------|----------|---|-------------|--------------|-------------|---|
| ENSMUST0000020145.11 | Sgk1     | 0 | 1.352188242 | 0.028185524  | 1.501572067 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST0000037947.14 | Mc11     | 0 | 1.351802483 | 0.941461975  | 0.882390907 | Mus musculus myeloid cell leukemia sequence 1 (Mc11), mRNA. (from RefSeq NM_008562)                                 |
| ENSMUST0000054252.4  | Mirp110  | 0 | 1.351589517 | 1.143683198  | 0.447087711 | Mirp110 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST0000092673.10 | Sgk1     | 0 | 1.336588446 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST0000100036.9  | Sgk1     | 0 | 1.336588446 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST0000178687.1  | Tmem121b | 0 | 1.331204129 | 1.358581437  | 1.562265543 | Mus musculus transmembrane protein 121B (Tmem121b), mRNA. (from RefSeq NM_033567)                                   |
| ENSMUST0000114050.7  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_025284)                        |
| ENSMUST0000114049.1  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001039392)                     |
| ENSMUST0000114048.1  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190327)                     |
| ENSMUST0000164659.7  | Sgk1     | 0 | 1.320436448 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST0000182897.7  | Neur11b  | 0 | 1.319126778 | 0.534143138  | 1.630605363 | Neur11b (from geneSymbol)   |

|                       |        |   |             |             |             |   |
|-----------------------|--------|---|-------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000074806.11 | H2-Q2  | 0 | 1.312534272 | 1.146804148 | 1.034723583 | Mus musculus histocompatibility 2, Q region locus 2 (H2-Q2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010392)  |
| ENSMUST00000120509.7  | Sgk1   | 0 | 1.305108678 | 0.153881033 | 1.397687143 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845)   |
| ENSMUST00000219791.1  | Cdc34  | 0 | 1.304219963 | 0.314613577 | 1.784269894 | Cdc34 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000235863.1  | Hars   | 0 | 1.301301934 | 1.3825697   | 0.672360919 | Hars (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000224633.1  | Chchd1 | 0 | 1.265236629 | 1.07549508  | 0.74653148  | Chchd1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000115231.3  | Rpl39  | 0 | 1.248628291 | 0.626862441 | 1.354393124 | Mus musculus ribosomal protein L39 (Rpl39), mRNA. (from RefSeq NM_026055)   |
| ENSMUST00000160488.7  | Slirp  | 0 | 1.242043724 | 0.899584299 | 1.154242884 | RNA-binding protein that acts as a nuclear receptor corepressor. Probably acts by binding the SRA RNA, and repressing the SRA-mediated nuclear receptor coactivation. Binds the STR7 loop of SRA RNA. Also able to repress glucocorticoid (GR), androgen (AR), thyroid (TR) and VDR-mediated transactivation (By similarity). (from UniProt Q9D8T7) |
| ENSMUST00000057649.7  | Gm9803 | 0 | 1.239183045 | 0.358061866 | 0.655952673 | Regulates ATP-dependent protein translocation into the mitochondrial matrix. Inhibits DNAJC19 stimulation of HSPA9/Mortalin ATPase activity (By similarity). (from UniProt Q9CQV1)  |
| ENSMUST00000045674.3  | Plpp6  | 0 | 1.23650711  | 0.396587997 | 0.581225818 | Mus musculus phospholipid phosphatase 6 (Plpp6), mRNA. (from RefSeq NM_028922)  |

表8. *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup>マウスのWIRSによるmRNA発現変化の比較 (図9Dに関連) (一部抜粋)

| Ensemble Transcript ID | Gene symbol     | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-----------------|---|---|---|
| ENSMUST00000211073.1   | <i>Arhgef4</i>  | 1.932786128   | 0.141192223   | <i>Arhgef4</i> (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000074556.6   | <i>H2afj</i>    | 1.87668335  | 0.797553692   | <i>Mus musculus H2A histone family, member J (H2afj)</i> , mRNA. (from RefSeq NM_177688)  |
| ENSMUST00000150462.7   | <i>Trp53i11</i> | 1.854053225   | 0.890392996   | <i>Trp53i11</i> (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000124648.7   | <i>Tesc</i>     | 1.831431103   | 0.949221058   | <i>Tesc</i> (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000021204.3   | <i>Nxn</i>      | 1.79740372  | 1.631884073   | <i>Mus musculus nucleoredoxin (Nxn)</i> , mRNA. (from RefSeq NM_008750)   |
| ENSMUST00000123898.1   | <i>Tsc22d3</i>  | 1.794930569   | 1.293866332   | <i>Tsc22d3</i> (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000112996.8   | <i>Tsc22d3</i>  | 1.79435278  | 1.162405565   | <i>Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3)</i> , transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)  |
| ENSMUST00000153744.1   | <i>Fkbp5</i>    | 1.712251917   | 0.860909158   | Contains 1 PPlase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |
| ENSMUST00000209536.1   | <i>Tmem160</i>  | 1.656740189   | 1.67896197  | <i>Tmem160</i> (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000160703.1   | <i>Gjb6</i>     | 1.632210031   | 1.018034073   | One gap junction consists of a cluster of closely packed pairs of transmembrane channels, the connexons, through which materials of low MW diffuse from one cell to a neighboring cell (By similarity). (from UniProt E0CX48) |
| ENSMUST00000055738.11  | <i>Tsc22d3</i>  | 1.626658634   | 1.319015754   | <i>Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3)</i> , transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)   |

|                       |         |             |              |   |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000039380.8  | Gjtb6   | 1.535173173 | 0.884338008  | Mus musculus gap junction protein, beta 6 (Gjtb6), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001271663)   |
| ENSMUST00000081497.12 | Pop5    | 1.50748229  | 1.01591919   | Mus musculus processing of precursor 5, ribonuclease P/MRP family ( <i>S. cerevisiae</i> ) (Pop5), mRNA. (from RefSeq NM_026398)  |
| ENSMUST00000135455.1  | Pop5    | 1.50748229  | 1.01591919   | Component of ribonuclease P, a protein complex that generates mature tRNA molecules by cleaving their 5'-ends. Also a component of RNase MRP (By similarity). (from UniProt Q9DB28) |
| ENSMUST00000028199.11 | Tor1b   | 1.479818139 | 0.789064504  | Mus musculus torsin family 1, member B (Tor1b), mRNA. (from RefSeq NM_133673)   |
| ENSMUST00000099689.4  | Gm13889 | 1.415075688 | 0.870674758  | Gm13889 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000031304.13 | Tesc    | 1.414357393 | 0.607943221  | Mus musculus tescalcin (Tesc), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_021344)  |
| ENSMUST00000220519.1  | Crppa   | 1.364854813 | 0.493197046  | Mus musculus CDP-L-ribitol pyrophosphorylase A (Crppa), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001289504)  |
| ENSMUST00000077191.6  | Ethe1   | 1.361518042 | -0.226594674 | Mus musculus ethylmalonic encephalopathy 1 (Ethe1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_023154)   |
| ENSMUST00000020145.11 | Sgk1    | 1.352188242 | 1.458318981  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)  |
| ENSMUST00000037947.14 | Mcl1    | 1.351802483 | -0.100355477 | Mus musculus myeloid cell leukemia sequence 1 (Mcl1), mRNA. (from RefSeq NM_008562)   |
| ENSMUST00000054252.4  | Mrpl10  | 1.351589517 | -0.718746124 | Mrpl10 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000100036.9  | Sgk1    | 1.336588446 | 1.536686231  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849)   |

|                       |          |             |              |   |
|-----------------------|----------|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000092673.10 | Sgk1     | 1.336588446 | 1.536686231  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000178687.1  | Tmem121b | 1.331204129 | 0.187603136  | Mus musculus transmembrane protein 121B (Tmem121b), mRNA. (from RefSeq NM_033567)                                   |
| ENSMUST00000114050.7  | Tmsb10   | 1.329109502 | -0.19425012  | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_025284)                        |
| ENSMUST00000114049.1  | Tmsb10   | 1.329109502 | -0.19425012  | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001039392)                     |
| ENSMUST00000114048.1  | Tmsb10   | 1.329109502 | -0.19425012  | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190327)                     |
| ENSMUST00000164659.7  | Sgk1     | 1.320436448 | 1.536686231  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000182897.7  | Neur11b  | 1.319126778 | 1.111250554  | Neur11b (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000074806.11 | H2-Q2    | 1.312534272 | -0.122049232 | Mus musculus histocompatibility 2, Q region locus 2 (H2-Q2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010392)    |
| ENSMUST00000120509.7  | Sgk1     | 1.305108678 | 1.224788407  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST00000219791.1  | Cdc34    | 1.304219963 | 1.464895699  | Cdc34 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000235863.1  | Hars     | 1.301301934 | -0.761237073 | Hars (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000224633.1  | Chchd1   | 1.265236629 | -0.348372724 | Chchd1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000115231.3  | Rpl39    | 1.248628291 | 0.726170963  | Mus musculus ribosomal protein L39 (Rpl39), mRNA. (from RefSeq NM_026055)   |

|                       |        |             |              |   |
|-----------------------|--------|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000160488.7  | Slirp  | 1.242043724 | 0.256007212  | RNA-binding protein that acts as a nuclear receptor corepressor. Probably acts by binding the SRA RNA, and repressing the SRA-mediated nuclear receptor coactivation. Binds the STR7 loop of SRA RNA. Also able to repress glucocorticoid (GR), androgen (AR), thyroid (TR) and VDR-mediated transactivation (By similarity). (from UniProt Q9D8T7) |
| ENSMUST00000057649.7  | Gm9803 | 1.239183045 | 0.31615914   | Regulates ATP-dependent protein translocation into the mitochondrial matrix. Inhibits DNAJC19 stimulation of HSPA9/Mortalin ATPase activity (By similarity). (from UniProt Q9CQV1)  |
| ENSMUST00000045674.3  | P1pp6  | 1.23650711  | 0.213915766  | Mus musculus phospholipid phosphatase 6 (P1pp6), mRNA. (from RefSeq NM_028922)  |
| ENSMUST00000060005.14 | Rcan1  | 1.23289713  | 0.525673363  | Mus musculus regulator of calcineurin 1 (Rcan1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001081549)   |
| ENSMUST00000212124.1  | Polr2c | 1.228809378 | -0.451486957 | Polr2c (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000014445.6  | Pam16  | 1.216204353 | 0.32865215   | Mus musculus presequence translocase-associated motor 16 homolog ( <i>S. cerevisiae</i> ) (Pam16), mRNA. (from RefSeq NM_025571)  |
| ENSMUST00000023672.9  | Rcan1  | 1.213487291 | 0.27020917   | Mus musculus regulator of calcineurin 1 (Rcan1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_019466)  |
| ENSMUST00000161023.7  | Slirp  | 1.205265521 | 0.671679557  | Mus musculus SRA stem-loop interacting RNA binding protein (Slirp), mRNA. (from RefSeq NM_026958)   |
| ENSMUST00000023061.6  | Josd1  | 1.192496114 | -0.09485741  | Mus musculus Josephin domain containing 1 (Josd1), mRNA. (from RefSeq NM_028792)  |
| ENSMUST00000114551.9  | Cetn2  | 1.192017395 | 0.108539687  | Mus musculus centrin 2 (Cetn2), mRNA. (from RefSeq NM_019405)   |

表9. *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスにおけるWIRS負荷による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | p value    | q value     | Gene description   |
|------------------------|-------------|---|--|------------|-------------|--|
| ENSMUST0000092673.10   | Sgk1        | 26.30727164                                       | 2.072771928  | 8.10E-05   | 0.748880311 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850)          |
| ENSMUST00000164659.7   | Sgk1        | 26.14865366                                       | 2.061287907  | 9.10E-05   | 0.748880311 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848)          |
| ENSMUST00000100036.9   | Sgk1        | 26.14865366                                       | 2.061287907  | 9.10E-05   | 0.748880311 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849)          |
| ENSMUST00000120509.7   | Sgk1        | 27.26383503                                       | 1.9654461  | 0.00014003 | 0.858303898 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845)          |
| ENSMUST00000020145.11  | Sgk1        | 27.73448027                                       | 1.907433614  | 0.00017379 | 0.858303898 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)             |
| ENSMUST00000120411.8   | Fam107a     | 67.40453897                                       | 1.064068217  | 0.00088202 | 0.990187115 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000121887.7   | Fam107a     | 65.89250168                                       | 1.040371914  | 0.00127805 | 0.990187115 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001360337) |



|                       |         |             |              |            |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|------------|-------------|--|
| ENSMUST00000036070.14 | Fam107a | 65.89250168 | 1.040371914  | 0.00127805 | 0.990187115 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_183187)  |
| ENSMUST00000055738.11 | Tsc22d3 | 33.83545536 | 1.38876483   | 0.00186539 | 0.990187115 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)                  |
| ENSMUST00000124350.1  | Sgk1    | 16.84522656 | 1.932803407  | 0.00250691 | 0.990187115 | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)   |
| ENSMUST00000026670.4  | Nptx1   | 146.205222  | 0.711110819  | 0.00335863 | 0.990187115 | Mus musculus neuronal pentraxin 1 (Nptx1), mRNA. (from RefSeq NM_008730)   |
| ENSMUST0000005671.9   | Igf1r   | 17.14287168 | 1.88007324   | 0.00426531 | 0.990187115 | Mus musculus insulin-like growth factor I receptor (Igf1r), mRNA. (from RefSeq NM_010513)                                  |
| ENSMUST00000105287.10 | Dcn     | 27.07240793 | 1.358532081  | 0.00582704 | 0.990187115 | Mus musculus decorin (Dcn), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190451)   |
| ENSMUST00000163448.3  | Dcn     | 27.07240793 | 1.358532081  | 0.00582704 | 0.990187115 | Mus musculus decorin (Dcn), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_007833)  |
| ENSMUST00000029771.12 | F3      | 34.39885879 | 1.198234547  | 0.00597364 | 0.990187115 | Mus musculus coagulation factor III (F3), mRNA. (from RefSeq NM_010171)  |
| ENSMUST00000024238.10 | Celstr3 | 9.337786057 | -2.337563248 | 0.00758569 | 0.990187115 | Mus musculus cadherin, EGF LAG seven-pass G-type receptor 3 (Celstr3), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_080437) |
| ENSMUST00000213524.2  | Celstr3 | 9.337786057 | -2.337563248 | 0.00758569 | 0.990187115 | Celstr3 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000034214.7  | Mt2     | 138.8341033 | 0.645365447  | 0.00967959 | 0.990187115 | Mus musculus metallothionein 2 (Mt2), mRNA. (from RefSeq NM_008630)  |

|                       |         |             |              |            |             |   |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|------------|-------------|---|
| ENSMUST00000064872.12 | Ahcy12  | 26.44617442 | 1.249071939  | 0.01112812 | 0.990187115 | S-adenosyl-L-homocysteine + H(2)O = L-homocysteine + adenosine. (from UniProt F8WI65)                                 |
| ENSMUST00000115238.9  | Ahcy12  | 26.44617442 | 1.249071939  | 0.01112812 | 0.990187115 | Mus musculus S-adenosylhomocysteine hydrolase-like 2 (Ahcy12), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001171001) |
| ENSMUST00000121270.7  | Leng8   | 16.77018613 | -1.580864534 | 0.01217583 | 0.990187115 | Leng8 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000112996.8  | Tsc22d3 | 27.15804302 | 1.239382409  | 0.01346955 | 0.990187115 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)          |
| ENSMUST00000137133.1  | Fam107a | 45.48797949 | 0.926955174  | 0.01375872 | 0.990187115 | Fam107a (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000123898.1  | Tsc22d3 | 26.92501376 | 1.232953048  | 0.0139549  | 0.990187115 | Tsc22d3 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000136312.1  | Ubc     | 4275.155662 | -0.300574887 | 0.01702538 | 0.990187115 | Ubiquitin exists either covalently attached to another protein, or free (unanchored). (from UniProt P0CG50)           |
| ENSMUST00000156249.1  | Ubc     | 4275.155662 | -0.300574887 | 0.01702538 | 0.990187115 | Mus musculus ubiquitin C (Ubc), mRNA. (from RefSeq NM_019639)   |
| ENSMUST00000039011.3  | Uchl4   | 13.94150344 | -1.610167448 | 0.01742486 | 0.990187115 | Mus musculus ubiquitin carboxyl-terminal esterase L4 (Uchl4), mRNA. (from RefSeq NM_033607)                           |
| ENSMUST00000067384.5  | Rhob    | 147.0970893 | 0.552247815  | 0.0174959  | 0.990187115 | Mus musculus ras homolog family member B (Rhob), mRNA. (from RefSeq NM_007483)  |
| ENSMUST00000034215.7  | Mt1     | 353.2656542 | 0.411045117  | 0.02212494 | 0.990187115 | Mus musculus metallothionein 1 (Mt1), mRNA. (from RefSeq NM_013602)   |

|                      |        |             |             |            |             |   |
|----------------------|--------|-------------|-------------|------------|-------------|---|
| ENSMUST00000109655.8 | Zfp423 | 20.90753909 | 1.291595829 | 0.02259503 | 0.990187115 | Mus musculus zinc finger protein 423 (Zfp423), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_033327)                    |
| ENSMUST00000212291.1 | Mt1    | 291.1585028 | 0.421918563 | 0.02324712 | 0.990187115 | Mt1 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000212806.1 | Mt2    | 125.6039109 | 0.59196295  | 0.02351054 | 0.990187115 | Mt2 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000102995.8 | Aheyl2 | 37.70188268 | 0.935968771 | 0.02404032 | 0.990187115 | Mus musculus S-adenosylhomocysteine hydrolase-like 2 (Aheyl2), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001171000) |
| ENSMUST0000028921.5  | Xrn2   | 25.97058932 | 1.118816359 | 0.0240537  | 0.990187115 | Mus musculus 5'-3' exoribonuclease 2 (Xrn2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_011917)                      |
| ENSMUST0000099069.2  | Kcng1  | 24.29236191 | 1.155100025 | 0.02474377 | 0.990187115 | Mus musculus potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 1 (Kcng1), mRNA. (from RefSeq NM_001081134)         |
| ENSMUST00000109191.1 | Kcng1  | 24.29236191 | 1.155100025 | 0.02474377 | 0.990187115 | Membrane; Multi-pass membrane protein (By similarity). (from UniProt B2RVK9)  |
| ENSMUST0000034023.3  | Serg1  | 28.2625825  | 1.071779808 | 0.02490509 | 0.990187115 | Mus musculus scrapie responsive gene 1 (Serg1), mRNA. (from RefSeq NM_009136)   |
| ENSMUST00000115242.8 | Aheyl2 | 37.5432647  | 0.926048721 | 0.02563919 | 0.990187115 | Mus musculus S-adenosylhomocysteine hydrolase-like 2 (Aheyl2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_021414)    |

表10. PrLD欠損による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD</sup> / <i>ΔPrLD</i> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | p value     | q value     | Gene description  |
|------------------------|-------------|---|--|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000034215.7   | Mt1         | 393.8412941                                       | 0.541646142  | 0.001371876 | 0.993764095 | Mus musculus metallothionein 1 (Mt1), mRNA. (from RefSeq NM_0136602)  |
| ENSMUST00000212291.1   | Mt1         | 324.0219578                                       | 0.546352096  | 0.001499723 | 0.993764095 | Mt1 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000034214.7   | Mt2         | 150.5115252                                       | 0.692418765  | 0.002052791 | 0.993764095 | Mus musculus metallothionein 2 (Mt2), mRNA. (from RefSeq NM_008630)   |
| ENSMUST00000193367.1   | Atp1b1      | 603.4140427                                       | 0.408181042  | 0.002602875 | 0.993764095 | Atp1b1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000212806.1   | Mt2         | 139.7361467                                       | 0.700712266  | 0.003241555 | 0.993764095 | Mt2 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000067646.11  | Ilf3        | 29.40680292                                       | -1.232630381   | 0.007856286 | 0.993764095 | Mus musculus interleukin enhancer binding factor 3 (Ilf3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001042707) |
| ENSMUST00000235196.1   | Fth1        | 254.2403653                                       | 0.473605689  | 0.008354024 | 0.993764095 | Mus musculus ferritin heavy polypeptide 1 (Fth1), transcript variant 2, non-coding RNA. (from RefSeq NR_073181)   |
| ENSMUST0000025563.7    | Fth1        | 254.2403653                                       | 0.473605689  | 0.008354024 | 0.993764095 | Mus musculus ferritin heavy polypeptide 1 (Fth1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010239)             |
| ENSMUST00000213603.1   | Ilf3        | 28.74745377                                       | -1.187400715   | 0.010845278 | 0.993764095 | Mus musculus interleukin enhancer binding factor 3 (Ilf3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_010561)    |

|                       |        |             |              |             |             |   |
|-----------------------|--------|-------------|--------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000214758.1  | IIf3   | 28.74745377 | -1.187400715 | 0.010845278 | 0.993764095 | May facilitate double-stranded RNA-regulated gene expression at the level of post-transcription. Can act as a translation inhibitory protein which binds to coding sequences of acid beta-glucosidase (GCCase) and other mRNAs and functions at the initiation phase of GCCase mRNA translation, probably by inhibiting its binding to polysomes. Can regulate protein arginine N-methyltransferase 1 activity. Can promote the formation of stable DNA-dependent protein kinase holoenzyme complexes on DNA (By similarity). (from UniProt Q9Z1X4) |
| ENSMUST00000213518.1  | IIf3   | 28.49441206 | -1.168183255 | 0.012633101 | 0.993764095 | Mus musculus interleukin enhancer binding factor 3 (IIf3), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001277321)   |
| ENSMUST00000187168.6  | Eif4a2 | 452.4482516 | 0.388383138  | 0.015475618 | 0.993764095 | Belongs to the DEAD box helicase family. (from UniProt Q8BTU6)  |
| ENSMUST00000077605.11 | Eif4a2 | 452.4482516 | 0.388383138  | 0.015475618 | 0.993764095 | Mus musculus eukaryotic translation initiation factor 4A2 (Eif4a2), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001123038)  |
| ENSMUST00000123413.7  | Eif4a2 | 452.4482516 | 0.388383138  | 0.015475618 | 0.993764095 | Mus musculus eukaryotic translation initiation factor 4A2 (Eif4a2), transcript variant 4, non-coding RNA. (from RefSeq NR_110335)   |

|                       |        |             |             |             |             |   |
|-----------------------|--------|-------------|-------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000080751.8  | Shisa1 | 10.76364193 | 1.902500136 | 0.015953865 | 0.993764095 | Mus musculus shisa like 1 (Shisa1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001163145)  |
| ENSMUST00000059539.4  | Nap115 | 423.6348852 | 0.369259945 | 0.016332039 | 0.993764095 | Mus musculus nucleosome assembly protein 1-like 5 (Nap115), mRNA. (from RefSeq NM_021432)   |
| ENSMUST00000058762.14 | Pam    | 189.3100755 | 0.479536774 | 0.016540159 | 0.993764095 | Bifunctional enzyme that catalyzes 2 sequential steps in C-terminal alpha-amidation of peptides. The monooxygenase part produces an unstable peptidyl(2-hydroxyglycine) intermediate that is dismutated to glyoxylate and the corresponding desglycine peptide amide by the lyase part. C-terminal amidation of peptides such as neuropeptides is essential for full biological activity (By similarity). (from UniProt P97467) |
| ENSMUST00000023599.12 | Eif4a2 | 494.2046589 | 0.395033734 | 0.016630679 | 0.993764095 | Mus musculus eukaryotic translation initiation factor 4A2 (Eif4a2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_013506)   |
| ENSMUST00000034023.3  | Srpg1  | 30.15484751 | 1.076520168 | 0.018502761 | 0.993764095 | Mus musculus scrapie responsive gene 1 (Srpg1), mRNA. (from RefSeq NM_009136)   |
| ENSMUST00000097625.9  | Pam    | 187.5919922 | 0.464999672 | 0.020268659 | 0.993764095 | Mus musculus peptidylglycine alpha-amidating monooxygenase (Pam), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_013626)   |

|                       |        |             |              |             |             |   |
|-----------------------|--------|-------------|--------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000063384.3  | Rtl8c  | 191.4598646 | 0.479014603  | 0.020515679 | 0.993764095 | Mus musculus retrotransposon Gag like 8C (Rtl8c), mRNA. (from RefSeq NM_028375)   |
| ENSMUST00000027863.12 | Atp1b1 | 1422.891518 | 0.272011591  | 0.021099042 | 0.993764095 | Mus musculus ATPase, Na+/K+ transporting, beta 1 polypeptide (Atp1b1), mRNA. (from RefSeq NM_009721)  |
| ENSMUST00000144520.7  | Nsmf   | 36.8937287  | -0.920653203 | 0.023357813 | 0.993764095 | Nsmf (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000202129.1  | Nsg1   | 58.74821341 | 0.743774277  | 0.023441267 | 0.993764095 | Nsg1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000216964.1  | Neo1   | 13.76150187 | 1.566257508  | 0.02410701  | 0.993764095 | Neo1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000051711.15 | Mark2  | 36.52634287 | -0.946963576 | 0.024579509 | 0.993764095 | Mus musculus MAP/microtubule affinity regulating kinase 2 (Mark2), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_007928)  |
| ENSMUST00000115341.10 | Eif4a2 | 482.3636393 | 0.368733471  | 0.025289405 | 0.993764095 | ATP-dependent RNA helicase which is a subunit of the eIF4F complex involved in cap recognition and is required for mRNA binding to ribosome. In the current model of translation initiation, eIF4A unwinds RNA secondary structures in the 5'-UTR of mRNAs which is necessary to allow efficient binding of the small ribosomal subunit, and subsequent scanning for the initiator codon. (from UniProt P10630) |
| ENSMUST00000070375.7  | Penk   | 250.4629501 | 0.463751387  | 0.025814372 | 0.993764095 | Mus musculus preproenkephalin (Penk), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001002927)  |

表11. WIRSとPrLD欠損の複合効果による翻訳変化 (ribosome profiling) (p値が小さい順に一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | The mean of normalized read counts of all samples | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | p value  | q value     | Gene description  |
|------------------------|-------------|---|--|----------|-------------|---|
| ENSMUST00000034214.7   | Mt2         | 209.7820573                                       | 1.621808197  | 1.88E-10 | 3.42E-06    | Mus musculus metallothionein 2 (Mt2), mRNA. (from RefSeq NM_008630)   |
| ENSMUST00000212806.1   | Mt2         | 192.6464117                                       | 1.607722461  | 2.77E-10 | 3.42E-06    | Mt2 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000034215.7   | Mt1         | 462.0714338                                       | 1.15509423   | 5.70E-09 | 4.69E-05    | Mus musculus metallothionein 1 (Mt1), mRNA. (from RefSeq NM_013602)   |
| ENSMUST00000212291.1   | Mt1         | 376.8609185                                       | 1.140617951  | 8.86E-09 | 5.47E-05    | Mt1 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000098192.3   | Hbb-bt      | 202.5628884                                       | 1.307918229  | 3.59E-08 | 0.000156646 | Mus musculus hemoglobin, beta adult t chain (Hbb-bt), mRNA. (from RefSeq NM_008220)                                 |
| ENSMUST00000153218.1   | Hbb-bs      | 155.7200491                                       | 1.401053549  | 3.81E-08 | 0.000156646 | Belongs to the globin family. (from UniProt E9Q223)   |
| ENSMUST00000023934.7   | Hbb-bs      | 207.5312445                                       | 1.266457203  | 7.35E-08 | 0.000259075 | Mus musculus hemoglobin, beta adult s chain (Hbb-bs), mRNA. (from RefSeq NM_001201391)                              |
| ENSMUST00000020145.11  | Sgk1        | 32.07166584                                       | 2.25818335   | 3.28E-06 | 0.010129836 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST00000164659.7   | Sgk1        | 29.09066696                                       | 2.341058841  | 5.39E-06 | 0.012092327 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |



|                      |         |             |             |             |             |  |
|----------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000100036.9 | Sgk1    | 29.09066696 | 2.341058841 | 5.39E-06    | 0.012092327 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849)          |
| ENSMUST0000092673.10 | Sgk1    | 29.09066696 | 2.341058841 | 5.39E-06    | 0.012092327 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850)          |
| ENSMUST00000120509.7 | Sgk1    | 30.77329573 | 2.273423037 | 6.36E-06    | 0.013076578 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845)          |
| ENSMUST0000055738.11 | Tsc22d3 | 39.19608104 | 1.797541473 | 2.43E-05    | 0.04620846  | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)                    |
| ENSMUST0000093207.3  | Hba-a2  | 217.4442796 | 1.751165369 | 8.25E-05    | 0.145442153 | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 2 (Hba-a2), mRNA. (from RefSeq NM_001083955)                                      |
| ENSMUST0000093209.3  | Hba-a1  | 217.9959994 | 1.747312682 | 9.57E-05    | 0.15752443  | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 1 (Hba-a1), mRNA. (from RefSeq NM_008218)   |
| ENSMUST00000112172.3 | Tmsb4x  | 649.7824079 | 0.694053361 | 0.000144605 | 0.223143533 | Mus musculus thymosin, beta 4, X chromosome (Tmsb4x), mRNA. (from RefSeq NM_021278)  |
| ENSMUST00000120411.8 | Fam107a | 67.21990368 | 1.172673949 | 0.000296929 | 0.399583833 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000121887.7 | Fam107a | 66.51317837 | 1.174483124 | 0.000307497 | 0.399583833 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001360337) |

|                      |         |             |             |             |             |  |
|----------------------|---------|-------------|-------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST0000036070.14 | Fam107a | 66.51317837 | 1.174483124 | 0.000307497 | 0.399583833 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_183187)  |
| ENSMUST00000112176.7 | Tmsb4x  | 838.7890523 | 0.624842805 | 0.000389923 | 0.458437555 | Plays an important role in the organization of the cytoskeleton. Binds to and sequesters actin monomers (G actin) and therefore inhibits actin polymerization. (from UniProt P20065)   |
| ENSMUST00000112175.1 | Tmsb4x  | 838.7890523 | 0.624842805 | 0.000389923 | 0.458437555 | Plays an important role in the organization of the cytoskeleton. Binds to and sequesters actin monomers (G actin) and therefore inhibits actin polymerization. (from UniProt P20065)   |
| ENSMUST00000124350.1 | Sgk1    | 17.81464791 | 2.135123899 | 0.000589828 | 0.661947339 | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)   |
| ENSMUST00000237087.1 | Cox8a   | 304.3617542 | 0.752769562 | 0.000623667 | 0.669493056 | Cox8a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000084013.1 | mt-Nd4l | 1237.584522 | 0.632200629 | 0.000715858 | 0.736439062 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD77) |

|                       |         |             |              |             |             |  |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000039758.5  | Cox8a   | 424.5292414 | 0.65346409   | 0.001742787 | 0.993235682 | Mus musculus cytochrome c oxidase subunit 8A (Cox8a), mRNA. (from RefSeq NM_007750)                        |
| ENSMUST00000115233.1  | Ppp1r2  | 79.17251662 | 0.94464186   | 0.001853921 | 0.993235682 | Ppp1r2 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000060188.13 | Ppp1r2  | 82.87104624 | 0.922383307  | 0.001918442 | 0.993235682 | Mus musculus protein phosphatase 1, regulatory inhibitor subunit 2 (Ppp1r2), mRNA. (from RefSeq NM_025800) |
| ENSMUST00000092584.5  | Marcks  | 153.1147598 | -0.728104363 | 0.00207842  | 0.993235682 | Mus musculus myristoylated alanine rich protein kinase C substrate (Marcks), mRNA. (from RefSeq NM_008538) |
| ENSMUST0000029771.12  | F3      | 34.49069939 | 1.328641546  | 0.002428158 | 0.993235682 | Mus musculus coagulation factor III (F3), mRNA. (from RefSeq NM_010171)                                    |
| ENSMUST00000177595.8  | Fut8    | 21.07307235 | 1.70763431   | 0.002474657 | 0.993235682 | Mus musculus fucosyltransferase 8 (Fut8), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001252614)           |
| ENSMUST00000171770.9  | Fut8    | 21.07307235 | 1.70763431   | 0.002474657 | 0.993235682 | Mus musculus fucosyltransferase 8 (Fut8), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_016893)              |
| ENSMUST00000062804.7  | Fut8    | 21.07307235 | 1.70763431   | 0.002474657 | 0.993235682 | Mus musculus fucosyltransferase 8 (Fut8), transcript variant 5, non-coding RNA. (from RefSeq NR_045554)    |
| ENSMUST00000137133.1  | Fam107a | 46.8725347  | 1.112895899  | 0.003040675 | 0.993235682 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000118009.1  | Naf1    | 31.20978321 | -1.348064505 | 0.003402447 | 0.993235682 | Mus musculus nuclear assembly factor 1 ribonucleoprotein (Naf1), mRNA. (from RefSeq NM_001163564)          |

表12. *Iif3*<sup>+/+</sup>マウスでWIRSによって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term | Number of genes | Gene symbols | Direction of translation change | Fold enrichment | p value | FDR |
|---------------------|---------|-----------------|--------------|---------------------------------|-----------------|---------|-----|
| Not applicable      |         |                 |              |                                 |                 |         |     |

表13. PrLD欠損によって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term            | Number of genes | Gene symbols           | Direction of translation change | Fold enrichment | p value  | FDR      |
|---------------------|--------------------|-----------------|------------------------|---------------------------------|-----------------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY        | Mineral absorption | 4               | Atp1b1, Fth1, Mt1, Mt2 | Up                              | 39.44           | 1.10E-04 | 6.19E-03 |

表14. WIRSとPrLD欠損の複合効果によって翻訳が上昇または減少した遺伝子のGO解析結果

| Annotation Category | GO term   | Number of genes | Gene symbols  | Direction of translation change | Fold enrichment | p value  | FDR      |
|---------------------|---|-----------------|---|---------------------------------|-----------------|----------|----------|
| KEGG_PATHWAY        | Oxidative phosphorylation                       | 8               | Cox17, Cox8a, mt-Atp8, mt-Nd4l, mt-Nd6, Ndufa6, Ndufb5, Uqcrlh              | Up                              | 11.34           | 4.83E-06 | 5.36E-04 |
| KEGG_PATHWAY        | Alzheimer's disease                             | 10              | Araf, Cox8a, Fzd2, mt-Atp8, mt-Nd4l, mt-Nd6, Ndufa6, Ndufb5, Ppp3cb, Uqcrlh | Up                              | 5.00            | 1.14E-04 | 2.66E-03 |
| KEGG_PATHWAY        | Parkinson's disease                             | 7               | Cox8a, mt-Atp8, mt-Nd4l, mt-Nd6, Ndufa6, Ndufb5, Uqcrlh                     | Up                              | 5.07            | 2.11E-03 | 2.61E-02 |
| KEGG_PATHWAY        | Huntington's disease                            | 7               | Cox8a, mt-Atp8, mt-Nd4l, mt-Nd6, Ndufa6, Ndufb5, Uqcrlh                     | Up                              | 4.43            | 4.13E-03 | 3.82E-02 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Cellular oxidant detoxification                 | 4               | Hba-a1, Hba-a2, Hbb-bs, Hbb-bt  | Up                              | 46.73           | 7.91E-05 | 4.11E-02 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Monounsaturated fatty acid biosynthetic process | 3               | Scd1, Scd2, Scd3  | Down                            | 212.26          | 7.15E-05 | 3.82E-02 |
| GOTERM_BP_DIRECT    | Response to fatty acid                          | 4               | Scd1, Scd2, Scd3, Sox9  | Down                            | 45.28           | 8.81E-05 | 3.82E-02 |

表15. WIRS、PrLD欠失、WIRSとPrLD欠損の複合効果による翻訳変化 (図9E-9Gに関連) (一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|---|---|--|---|
| ENSMUST0000092673.10   | Sgk1        | 0   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000100036.9   | Sgk1        | 0   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST00000164659.7   | Sgk1        | 0   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000120509.7   | Sgk1        | 0   | 0.678966839   | 2.273423037  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST00000124350.1   | Sgk1        | 0   | 0.476851711   | 2.135123899  | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)  |
| ENSMUST0000020145.11   | Sgk1        | 0   | 0.432913695   | 2.25818335   | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST0000005671.9    | Igf1r       | 0   | 0.86182931  | 0.70355451   | Mus musculus insulin-like growth factor I receptor (Igf1r), mRNA. (from RefSeq NM_010513)                           |

|                       |        |   |             |             |             |   |
|-----------------------|--------|---|-------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000153744.1  | Fkbp5  | 0 | 1.672128217 | -0.15966862 | 1.09962072  | Contains 1 PP1ase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |
| ENSMUST0000014743.9   | Csf1   | 0 | 1.66437424  | 0.809191355 | 0.973848626 | Mus musculus colony stimulating factor 1 (macrophage) (Csf1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_007778)         |
| ENSMUST00000120243.7  | Csf1   | 0 | 1.66437424  | 0.809191355 | 0.973848626 | Mus musculus colony stimulating factor 1 (macrophage) (Csf1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001113530)      |
| ENSMUST00000128927.8  | Ahcy12 | 0 | 1.571874005 | 1.415283762 | 1.7111851   | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt H3BL31)   |
| ENSMUST00000154079.7  | Ahcy12 | 0 | 1.547456753 | 1.427980994 | 1.536624036 | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt D3YX97)   |
| ENSMUST00000134438.1  | Ahcy12 | 0 | 1.508612847 | 1.415283762 | 1.673033179 | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt D3YYM7)   |
| ENSMUST00000085684.10 | Smurf1 | 0 | 1.455504474 | 0.300440205 | 1.433755846 | Mus musculus SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 1 (Smurf1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001038627) |
| ENSMUST00000110029.8  | Limk2  | 0 | 1.414409169 | 0.735977612 | 0.817004937 | Mus musculus LIM motif-containing protein kinase 2 (Limk2), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001034030)        |
| ENSMUST00000052113.11 | St7    | 0 | 1.394141155 | 0.830270916 | 0.805304944 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001289626)                |



|                       |         |   |             |             |             |  |
|-----------------------|---------|---|-------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000115417.3  | St7     | 0 | 1.394141155 | 0.830270916 | 0.805304944 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001083315)             |
| ENSMUST0000055738.11  | Tsc22d3 | 0 | 1.38876483  | 0.407846043 | 1.797541473 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)              |
| ENSMUST00000000674.12 | St7     | 0 | 1.365546517 | 0.830270916 | 0.805304944 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 7, mRNA. (from RefSeq NM_001289629)             |
| ENSMUST00000100461.6  | Smurf1  | 0 | 1.359029965 | 0.300440205 | 1.355815197 | Mus musculus SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 1 (Smurf1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_029438) |
| ENSMUST0000081635.12  | St7     | 0 | 1.326279856 | 0.706583177 | 0.748982158 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001289624)             |
| ENSMUST0000053148.13  | St7     | 0 | 1.326279856 | 0.706583177 | 0.748982158 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_022332)                |
| ENSMUST0000049655.2   | Tmem215 | 0 | 1.303878872 | 1.321532302 | 1.162878303 | Mus musculus transmembrane protein 215 (Tmem215), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_177175)                  |
| ENSMUST00000179526.1  | Tmem215 | 0 | 1.303878872 | 1.321532302 | 1.162878303 | Mus musculus transmembrane protein 215 (Tmem215), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001166009)               |

|                      |        |   |             |             |             |   |
|----------------------|--------|---|-------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000115419.7 | St7    | 0 | 1.298846183 | 0.706583177 | 0.748982158 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001289625)  |
| ENSMUST0000077080.8  | St7    | 0 | 1.298846183 | 0.706583177 | 0.748982158 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_001289627)  |
| ENSMUST00000109655.8 | Zip423 | 0 | 1.291595829 | 0.726377487 | 0.547133807 | Mus musculus zinc finger protein 423 (Zfp423), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_033327)  |
| ENSMUST0000052250.14 | Zip423 | 0 | 1.263290479 | 0.726377487 | 0.469752007 | Transcription factor that can both act as an activator or a repressor depending on the context. Plays a central role in BMP signaling and olfactory neurogenesis. Associates with SMADs in response to BMP2 leading to activate transcription of BMP target genes. Acts as a transcriptional repressor via its interaction with EBF1, a transcription factor involved in terminal olfactory receptor neurons differentiation; this interaction preventing EBF1 to bind DNA and activate olfactory-specific genes. Involved in olfactory neurogenesis by participating in a developmental switch that regulates the transition from differentiation to maturation in olfactory receptor neurons. Controls proliferation and differentiation of neural precursors in cerebellar vermis formation. (from UniProt Q80TS5) |
| ENSMUST00000163821.2 | Shtn1  | 0 | 1.256204358 | 0.426817561 | 0.89534428  | Mus musculus shootin 1 (Shtn1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_175172)   |

表16. *Ilf3*<sup>+/+</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup>マウスのWIRSによる翻訳変化の比較 (図9Hに関連) (一部抜粋)

| Ensemble Transcript ID | Gene symbol  | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>PLD</sub>/ΔP<sub>PLD</sub></sup> Control) | Gene description   |
|------------------------|--------------|--|--|--|
| ENSMUST0000092673.10   | <i>Sgk1</i>  | 2.072771928  | 1.822394601  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 ( <i>Sgk1</i> ), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000164659.7   | <i>Sgk1</i>  | 2.061287907  | 1.822394601  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 ( <i>Sgk1</i> ), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000100036.9   | <i>Sgk1</i>  | 2.061287907  | 1.822394601  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 ( <i>Sgk1</i> ), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST00000120509.7   | <i>Sgk1</i>  | 1.9654461  | 1.604107431  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 ( <i>Sgk1</i> ), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST00000124350.1   | <i>Sgk1</i>  | 1.932803407  | 1.664550728  | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)   |
| ENSMUST0000020145.11   | <i>Sgk1</i>  | 1.907433614  | 1.835847481  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 ( <i>Sgk1</i> ), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST00000005671.9   | <i>Igf1r</i> | 1.88007324   | -0.150755545   | Mus musculus insulin-like growth factor I receptor ( <i>Igf1r</i> ), mRNA. (from RefSeq NM_010513)                           |
| ENSMUST00000153744.1   | <i>Fkbp5</i> | 1.672128217  | 1.256304264  | Contains 1 PPIase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)  |
| ENSMUST00000014743.9   | <i>Csf1</i>  | 1.66437424   | 0.164729181  | Mus musculus colony stimulating factor 1 (macrophage) ( <i>Csf1</i> ), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_007778)   |

|                       |         |  |             |              |   |
|-----------------------|---------|--|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000120243.7  | Csf1    |  | 1.66437424  | 0.164729181  | Mus musculus colony stimulating factor 1 (macrophage) (Csf1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001113530)      |
| ENSMUST00000128927.8  | Ahcy12  |  | 1.571874005 | 0.298468202  | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt H3BL31)   |
| ENSMUST00000154079.7  | Ahcy12  |  | 1.547456753 | 0.10910159   | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt D3YX97)   |
| ENSMUST00000134438.1  | Ahcy12  |  | 1.508612847 | 0.260166778  | Belongs to the adenosylhomocysteinase family. (from UniProt D3YYM7)   |
| ENSMUST00000085684.10 | Smurf1  |  | 1.455504474 | 1.129691591  | Mus musculus SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 1 (Smurf1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001038627) |
| ENSMUST00000110029.8  | Limk2   |  | 1.414409169 | 0.083913861  | Mus musculus LIM motif-containing protein kinase 2 (Limk2), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001034030)        |
| ENSMUST00000052113.11 | St7     |  | 1.394141155 | -0.022265098 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001289626)                |
| ENSMUST00000115417.3  | St7     |  | 1.394141155 | -0.022265098 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001083315)                |
| ENSMUST00000055738.11 | Tsc22d3 |  | 1.38876483  | 1.388115444  | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)                 |
| ENSMUST00000000674.12 | St7     |  | 1.365546517 | -0.022265098 | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 7, mRNA. (from RefSeq NM_001289629)                |
| ENSMUST00000100461.6  | Smurf1  |  | 1.359029965 | 1.051445295  | Mus musculus SMAD specific E3 ubiquitin protein ligase 1 (Smurf1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_029438)    |
| ENSMUST00000081635.12 | St7     |  | 1.326279856 | 0.044371609  | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001289624)                |

|                       |         |             |              |  |
|-----------------------|---------|-------------|--------------|--|
| ENSMUST00000053148.13 | St7     | 1.326279856 | 0.044371609  | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 1, mRNA.<br>(from RefSeq NM_022332)   |
| ENSMUST00000049655.2  | Tmem215 | 1.303878872 | -0.158223997 | Mus musculus transmembrane protein 215 (Tmem215), transcript variant 1, mRNA.<br>(from RefSeq NM_177175)   |
| ENSMUST00000179526.1  | Tmem215 | 1.303878872 | -0.158223997 | Mus musculus transmembrane protein 215 (Tmem215), transcript variant 2, mRNA.<br>(from RefSeq NM_001166009)  |
| ENSMUST00000115419.7  | St7     | 1.298846183 | 0.044371609  | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 4, mRNA.<br>(from RefSeq NM_001289625)  |
| ENSMUST00000077080.8  | St7     | 1.298846183 | 0.044371609  | Mus musculus suppression of tumorigenicity 7 (St7), transcript variant 6, mRNA.<br>(from RefSeq NM_001289627)  |
| ENSMUST00000109655.8  | Zfp423  | 1.291595829 | -0.178326413 | Mus musculus zinc finger protein 423 (Zfp423), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_033327)   |
| ENSMUST00000052250.14 | Zfp423  | 1.263290479 | -0.256336475 | Transcription factor that can both act as an activator or a repressor depending on the context. Plays a central role in BMP signaling and olfactory neurogenesis. Associates with SMADs in response to BMP2 leading to activate transcription of BMP target genes. Acts as a transcriptional repressor via its interaction with EBF1, a transcription factor involved in terminal olfactory receptor neurons differentiation, this interaction preventing EBF1 to bind DNA and activate olfactory-specific genes. Involved in olfactory neurogenesis by participating in a developmental switch that regulates the transition from differentiation to maturation in olfactory receptor neurons. Controls proliferation and differentiation of neural precursors in cerebellar vermis formation.<br>(from UniProt Q80TS5) |

|                      |          |             |              |   |
|----------------------|----------|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000163821.2 | Shtn1    | 1.256204358 | 0.464129898  | Mus musculus shootin 1 (Shtn1), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_175172)   |
| ENSMUST0000018212.12 | Ints2    | 1.253461137 | 0.735179711  | Mus musculus integrator complex subunit 2 (Ints2), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_027421)  |
| ENSMUST00000108039.7 | Ints2    | 1.253461137 | 0.735179711  | Component of the Integrator complex, a complex involved in the small nuclear RNAs (snRNA) U1 and U2 transcription and in their 3'-box-dependent processing. The Integrator complex is associated with the C-terminal domain (CTD) of RNA polymerase II largest subunit (POLR2A) and is recruited to the U1 and U2 snRNAs genes (By similarity). (from UniProt Q80UK8) |
| ENSMUST0000032844.6  | Tmem126a | 1.251652376 | -0.228406354 | Mus musculus transmembrane protein 126A (Tmem126a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_025460)   |
| ENSMUST0000064872.12 | Ahcy12   | 1.249071939 | 0.30587152   | S-adenosyl-L-homocysteine + H(2)O = L-homocysteine + adenosine. (from UniProt F8WI65)   |
| ENSMUST00000115238.9 | Ahcy12   | 1.249071939 | 0.30587152   | Mus musculus S-adenosylhomocysteine hydrolase-like 2 (Ahcy12), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001171001)   |
| ENSMUST00000163202.1 | Camk1g   | 1.242486001 | 1.041482647  | Contains 1 protein kinase domain. (from UniProt F6YRI7)   |
| ENSMUST00000112996.8 | Tsc22d3  | 1.239382409 | 0.969744385  | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)  |
| ENSMUST00000123898.1 | Tsc22d3  | 1.232953048 | 0.906970768  | Tsc22d3 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000193254.5 | Apeh     | 1.229189821 | -0.205502358 | Mus musculus acylpeptide hydrolase (Apeh), mRNA. (from RefSeq NM_146226)  |
| ENSMUST00000179218.8 | Golga5   | 1.223510002 | 0.467135799  | Mus musculus golgi autoantigen, golgin subfamily a, 5 (Golga5), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001199004)  |

表17. WIRS応答性mRNAの発現変化 (図10Aに関連) (一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP1LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP1LD</sup> ΔP1LD Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP1LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|---|--|---|---|
| ENSMUST00000211073.1   | Arhgef4     | 0  | 1.9322786128  | 1.478083027  | 1.60161345  | Arhgef4 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000074556.6   | H2afj       | 0  | 1.87668335  | 1.084000578  | 1.922533831   | Mus musculus H2A histone family, member J (H2afj), mRNA. (from RefSeq NM_177688)  |
| ENSMUST00000150462.7   | Trp53i11    | 0  | 1.854053225   | 1.080376125  | 1.965392695   | Trp53i11 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000124648.7   | Tesc        | 0  | 1.831431103   | 0.854698205  | 1.788263586   | Tesc (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000021204.3   | Nxn         | 0  | 1.79740372  | 1.066406513  | 2.687434559   | Mus musculus nucleoredoxin (Nxn), mRNA. (from RefSeq NM_008750)   |
| ENSMUST00000123898.1   | Tsc22d3     | 0  | 1.794930569   | -0.534634695   | 0.776907644   | Tsc22d3 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000112996.8   | Tsc22d3     | 0  | 1.79435278  | -0.403914643   | 0.787390073   | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001077364)  |
| ENSMUST00000153744.1   | Fkbp5       | 0  | 1.712251917   | 1.680258222  | 2.555290228   | Contains 1 PPlase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |
| ENSMUST00000160703.1   | Gjb6        | 0  | 1.632210031   | 0.382814806  | 1.406803313   | One gap junction consists of a cluster of closely packed pairs of transmembrane channels, the connexons, through which materials of low MW diffuse from one cell to a neighboring cell (By similarity). (from UniProt E0CX48) |

|                       |         |   |             |              |             |   |
|-----------------------|---------|---|-------------|--------------|-------------|---|
| ENSMUST00000055738.11 | Tsc22d3 | 0 | 1.626658634 | -0.473791935 | 0.851512509 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)   |
| ENSMUST00000039380.8  | Gjb6    | 0 | 1.555173173 | 0.510114293  | 1.397532004 | Mus musculus gap junction protein, beta 6 (Gjb6), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001271663)  |
| ENSMUST00000081497.12 | Pop5    | 0 | 1.50748229  | 1.157827842  | 2.160652027 | Mus musculus processing of precursor 5, ribonuclease P/MRP family ( <i>S. cerevisiae</i> ) (Pop5), mRNA. (from RefSeq NM_026398)  |
| ENSMUST00000135455.1  | Pop5    | 0 | 1.50748229  | 1.157827842  | 2.160652027 | Component of ribonuclease P, a protein complex that generates mature tRNA molecules by cleaving their 5'-ends. Also a component of RNase MRP (By similarity). (from UniProt Q9DB28) |
| ENSMUST00000028199.11 | Tor1b   | 0 | 1.479818139 | 0.896882201  | 1.663133507 | Mus musculus torsin family 1, member B (Tor1b), mRNA. (from RefSeq NM_133673)   |
| ENSMUST00000099689.4  | Gm13889 | 0 | 1.415075688 | 0.33527069   | 1.186963649 | Gm13889 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000031304.13 | Tesc    | 0 | 1.414357393 | 0.617231799  | 1.231779296 | Mus musculus tescalin (Tesc), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_021344)   |
| ENSMUST00000077191.6  | Ethe1   | 0 | 1.361518042 | 1.312490153  | 1.133862419 | Mus musculus ethylmalonic encephalopathy 1 (Ethe1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_023154)   |
| ENSMUST00000020145.11 | Sgk1    | 0 | 1.352188242 | 0.028185524  | 1.501572067 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)  |



|                       |          |   |             |              |             |   |
|-----------------------|----------|---|-------------|--------------|-------------|---|
| ENSMUST00000037947.14 | Mc11     | 0 | 1.351802483 | 0.941461975  | 0.882390907 | Mus musculus myeloid cell leukemia sequence 1 (Mc11), mRNA. (from RefSeq NM_008562)                                 |
| ENSMUST00000054252.4  | Mirp10   | 0 | 1.351589517 | 1.143683198  | 0.447087711 | Mirp10 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000092673.10 | Sgk1     | 0 | 1.336588446 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000100036.9  | Sgk1     | 0 | 1.336588446 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST00000178687.1  | Tmem121b | 0 | 1.331204129 | 1.358581437  | 1.562265543 | Mus musculus transmembrane protein 121B (Tmem121b), mRNA. (from RefSeq NM_033567)                                   |
| ENSMUST00000114050.7  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_025284)                        |
| ENSMUST00000114049.1  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_001039392)                     |
| ENSMUST00000114048.1  | Tmsb10   | 0 | 1.329109502 | 1.067944714  | 0.900337242 | Mus musculus thymosin, beta 10 (Tmsb10), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001190327)                     |
| ENSMUST00000164659.7  | Sgk1     | 0 | 1.320436448 | -0.125435786 | 1.422294917 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000182897.7  | Neur11b  | 0 | 1.319126778 | 0.534143138  | 1.630605363 | Neur11b (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000120509.7  | Sgk1     | 0 | 1.305108678 | 0.153881033  | 1.397687143 | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |

|                       |        |   |             |             |             |   |
|-----------------------|--------|---|-------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000219791.1  | Cdc34  | 0 | 1.304219963 | 0.314613577 | 1.784269894 | Cdc34 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000235863.1  | Hars   | 0 | 1.301301934 | 1.3825697   | 0.672360919 | Hars (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000224633.1  | Ctchd1 | 0 | 1.265236629 | 1.07549508  | 0.74653148  | Ctchd1 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000115231.3  | Rpl39  | 0 | 1.248628291 | 0.626862441 | 1.354393124 | Mus musculus ribosomal protein L39 (Rpl39), mRNA. (from RefSeq NM_026055)   |
| ENSMUST00000160488.7  | Slirp  | 0 | 1.242043724 | 0.899584299 | 1.154242884 | RNA-binding protein that acts as a nuclear receptor corepressor. Probably acts by binding the SRA RNA, and repressing the SRA-mediated nuclear receptor coactivation. Binds the STR7 loop of SRA RNA. Also able to repress glucocorticoid (GR), androgen (AR), thyroid (TR) and VDR-mediated transactivation (By similarity). (from UniProt Q9D8T7) |
| ENSMUST0000057649.7   | Gm9803 | 0 | 1.239183045 | 0.358061866 | 0.655952673 | Regulates ATP-dependent protein translocation into the mitochondrial matrix. Inhibits DNAJC19 stimulation of HSPA9/Mortalin ATPase activity (By similarity). (from UniProt Q9CQV1)  |
| ENSMUST00000045674.3  | Ppp6   | 0 | 1.23650711  | 0.396587997 | 0.581225818 | Mus musculus phospholipid phosphatase 6 (Ppp6), mRNA. (from RefSeq NM_028922)   |
| ENSMUST00000060005.14 | Rcan1  | 0 | 1.23289713  | 0.535630368 | 1.047326647 | Mus musculus regulator of calcineurin 1 (Rcan1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001081549)   |
| ENSMUST00000212124.1  | Polr2c | 0 | 1.228809378 | 0.57181669  | 0.167333881 | Polr2c (from geneSymbol)  |

表18. WIRS応答性mRNAの翻訳変化 (図10Bに関連) (一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Tranlation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|---|---|--|---|
| ENSMUST0000092673.10   | Sgk1        | 0  | 2.072771928   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000164659.7   | Sgk1        | 0  | 2.061287907   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000100036.9   | Sgk1        | 0  | 2.061287907   | 0.528788427   | 2.341058841  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST00000120509.7   | Sgk1        | 0  | 1.9654461   | 0.678966839   | 2.273423037  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST00000124350.1   | Sgk1        | 0  | 1.932803407   | 0.476851711   | 2.135123899  | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)  |
| ENSMUST0000020145.11   | Sgk1        | 0  | 1.907433614   | 0.432913695   | 2.25818335   | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |
| ENSMUST00000153744.1   | Fkbp5       | 0  | 1.672128217   | -0.15966862   | 1.09962072   | Contains 1 PP1ase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |

|                      |         |   |             |              |             |  |
|----------------------|---------|---|-------------|--------------|-------------|--|
| ENSMUST0000055738.11 | Tsc22d3 | 0 | 1.38876483  | 0.407846043  | 1.797541473 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_010286)  |
| ENSMUST00000112996.8 | Tsc22d3 | 0 | 1.239382409 | 0.310708206  | 1.281537857 | Mus musculus TSC22 domain family, member 3 (Tsc22d3), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_00101077364)                                       |
| ENSMUST00000123898.1 | Tsc22d3 | 0 | 1.232953048 | 0.318424772  | 1.225123353 | Tsc22d3 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST0000029771.12 | F3      | 0 | 1.198234547 | 0.514319622  | 1.328641546 | Mus musculus coagulation factor III (F3), mRNA. (from RefSeq NM_010171)  |
| ENSMUST0000079413.10 | Fkbp5   | 0 | 1.193997312 | -0.142376301 | 0.826446573 | Mus musculus FK506 binding protein 5 (Fkbp5), mRNA. (from RefSeq NM_010220)  |
| ENSMUST00000114792.7 | Fkbp5   | 0 | 1.193997312 | -0.142376301 | 0.826446573 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000177939.7 | Fkbp5   | 0 | 1.193997312 | -0.142376301 | 0.826446573 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000233102.1 | Fkbp5   | 0 | 1.193997312 | -0.142376301 | 0.826446573 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000120411.8 | Fam107a | 0 | 1.064068217 | 0.303285206  | 1.172673949 | Fam107a (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000121887.7 | Fam107a | 0 | 1.040371914 | 0.276688886  | 1.174483124 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001360337)                         |

|                       |         |   |             |              |             |   |
|-----------------------|---------|---|-------------|--------------|-------------|---|
| ENSMUST00000036070.14 | Fam107a | 0 | 1.040371914 | 0.276688886  | 1.174483124 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_183187)   |
| ENSMUST00000182897.7  | Neur1lb | 0 | 0.973542211 | -0.055720649 | 0.659997097 | Neur1lb (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000109518.7  | Rprd1b  | 0 | 0.933733859 | 0.870062124  | 0.680545915 | Mus musculus regulation of nuclear pre-mRNA domain containing 1B (Rprd1b), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001291135)   |
| ENSMUST00000039380.8  | Gjb6    | 0 | 0.932818843 | 0.196531856  | 1.197957709 | Mus musculus gap junction protein, beta 6 (Gjb6), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001271663)  |
| ENSMUST00000137133.1  | Fam107a | 0 | 0.926955174 | 0.287386836  | 1.112895899 | Fam107a (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000053020.7  | Neur1lb | 0 | 0.917773258 | -0.139291495 | 0.390729422 | Mus musculus neuralized E3 ubiquitin protein ligase 1B (Neur1lb), mRNA. (from RefSeq NM_001081656)  |
| ENSMUST00000099689.4  | Gm13889 | 0 | 0.876633224 | 0.251572521  | 0.252292577 | Gm13889 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000160703.1  | Gjb6    | 0 | 0.769463468 | 0.123438856  | 0.932939793 | One gap junction consists of a cluster of closely packed pairs of transmembrane channels, the connexons, through which materials of low MW diffuse from one cell to a neighboring cell (By similarity). (from UniProt E0CX48) |
| ENSMUST00000124648.7  | Tesc    | 0 | 0.742805046 | 0.479956696  | 0.96707113  | Tesc (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000061070.5  | Pwwp2a  | 0 | 0.712479582 | -0.240642772 | 0.1013858   | Mus musculus PWWP domain containing 2A (Pwwp2a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_027557)  |

|                        |          |   |             |             |             |  |
|------------------------|----------|---|-------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000060005.14  | Rcan1    | 0 | 0.704399386 | 0.186849796 | 0.224354632 | Mus musculus regulator of calcineurin 1 (Rcan1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001081549)  |
| ENSMUST00000127306.1   | Enho     | 0 | 0.703880683 | 0.2429431   | 0.778736573 | Mus musculus energy homeostasis associated (Enho), mRNA. (from RefSeq NM_027147)   |
| ENSMUST00000232239.1   | Rcan1    | 0 | 0.689486847 | 0.311320004 | 0.603033098 | Inhibits calcineurin-dependent transcriptional responses by binding to the catalytic domain of calcineurin A. Could play a role during central nervous system development. (from UniProt Q9JHG6) |
| ENSMUST00000045557.9   | Slc7a5   | 0 | 0.687576266 | 0.256722663 | 0.343474985 | Mus musculus solute carrier family 7 (cationic amino acid transporter, y+ system), member 5 (Slc7a5), mRNA. (from RefSeq NM_011404)  |
| ENSMUST00000195998.4   | Rps27    | 0 | 0.663411842 | 0.687805191 | 0.899323313 | Rps27 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000028199.11  | Tor1b    | 0 | 0.661291006 | 1.00507068  | 0.855840109 | Mus musculus torsin family 1, member B (Tor1b), mRNA. (from RefSeq NM_133673)  |
| ENSMUST00000046470.15  | Mettl22  | 0 | 0.625387668 | 0.448433587 | 0.332254099 | Mus musculus methyltransferase like 22 (Mettl22), mRNA. (from RefSeq NM_146247)  |
| ENSMUST000000031304.13 | Tesc     | 0 | 0.621186116 | 0.343077987 | 0.974882022 | Mus musculus tescalcin (Tesc), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_021344)   |
| ENSMUST00000114630.2   | Tmem185a | 0 | 0.616282229 | 0.428359943 | 0.335396497 | Tmem185a (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000172002.7   | Gng13    | 0 | 0.616031047 | 0.799892519 | 0.885250403 | Mus musculus guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 13 (Gng13), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_022422)   |

表19. WIRS応答性mRNAの翻訳効率変化 (図10Cに関連) (一部抜粋)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP/LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP/LD</sup> Δ <i>P/LD</i> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP/LD</sup> Δ <i>P/LD</i> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|---|--|---|--|---|
| ENSMUST00000124350.1   | Sgk1        | 0   | 0.76595021   | 0.528598372   | 0.618720133  | Belongs to the protein kinase superfamily. (from UniProt D3YV51)  |
| ENSMUST00000164659.7   | Sgk1        | 0   | 0.723938578  | 0.629568076   | 0.844615   | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001161848) |
| ENSMUST00000092673.10  | Sgk1        | 0   | 0.719600696  | 0.629568076   | 0.844615   | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 5, mRNA. (from RefSeq NM_001161850) |
| ENSMUST00000100036.9   | Sgk1        | 0   | 0.707695561  | 0.629568076   | 0.844615   | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 4, mRNA. (from RefSeq NM_001161849) |
| ENSMUST00000120509.7   | Sgk1        | 0   | 0.640992185  | 0.508841696   | 0.808418276  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001161845) |
| ENSMUST00000020145.11  | Sgk1        | 0   | 0.540131247  | 0.384296123   | 0.678467853  | Mus musculus serum/glucocorticoid regulated kinase 1 (Sgk1), transcript variant 6, mRNA. (from RefSeq NM_011361)    |

|                       |         |   |             |              |              |   |
|-----------------------|---------|---|-------------|--------------|--------------|---|
| ENSMUST00000109518.7  | Rprd1b  | 0 | 0.3638943   | 0.40304358   | -0.308453343 | Mus musculus regulation of nuclear pre-mRNA domain containing 1B (Rprd1b), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001291135) |
| ENSMUST00000120411.8  | Fam107a | 0 | 0.312857454 | 0.49267865   | -0.413693306 | Fam107a (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000121887.7  | Fam107a | 0 | 0.29758998  | 0.472367458  | -0.401671693 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_001360337)      |
| ENSMUST00000036070.14 | Fam107a | 0 | 0.29758998  | 0.472367458  | -0.401671693 | Mus musculus family with sequence similarity 107, member A (Fam107a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_183187)         |
| ENSMUST0000029771.12  | F3      | 0 | 0.278167255 | 0.362146665  | 0.80084005   | Mus musculus coagulation factor III (F3), mRNA. (from RefSeq NM_010171)   |
| ENSMUST00000195998.4  | Rps27   | 0 | 0.230634019 | 0.425482019  | 0.114763306  | Rps27 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000035983.11 | Rpl21   | 0 | 0.207753465 | 0.289228374  | -0.673996503 | Mus musculus ribosomal protein L21 (Rpl21), mRNA. (from RefSeq NM_019647)   |
| ENSMUST00000075453.8  | Rpl21   | 0 | 0.207753465 | 0.289228374  | -0.673996503 | Rpl21 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000099272.2  | Rpl21   | 0 | 0.207753465 | 0.289228374  | -0.673996503 | Rpl21 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000137133.1  | Fam107a | 0 | 0.18057074  | 0.650823177  | -0.6838518   | Fam107a (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000061070.5  | Pwpp2a  | 0 | 0.130360888 | -0.280612507 | -0.891048271 | Mus musculus PWWP domain containing 2A (Pwpp2a), transcript variant 2, mRNA. (from RefSeq NM_027557)                              |
| ENSMUST00000053020.7  | Neur11b | 0 | 0.066848396 | -0.660277609 | -1.668197951 | Mus musculus neutralized E3 ubiquitin protein ligase 1B (Neur11b), mRNA. (from RefSeq NM_001081656)                               |



|                       |         |   |              |              |              |  |
|-----------------------|---------|---|--------------|--------------|--------------|--|
| ENSMUST00000079413.10 | Fkbp5   | 0 | 0.039339584  | -0.877489771 | -0.728930541 | Mus musculus FK506 binding protein 5 (Fkbp5), mRNA. (from RefSeq NM_010220)  |
| ENSMUST00000114792.7  | Fkbp5   | 0 | 0.039339584  | -0.877489771 | -0.728930541 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000177939.7  | Fkbp5   | 0 | 0.039339584  | -0.877489771 | -0.728930541 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000233102.1  | Fkbp5   | 0 | 0.039339584  | -0.877489771 | -0.728930541 | Interacts with functionally mature heterooligomeric progesterone receptor complexes along with HSP90 and TEBP (By similarity). (from UniProt Q64378) |
| ENSMUST00000170122.3  | Rps27   | 0 | 0.021695093  | 0.109463751  | -0.253291942 | Mus musculus ribosomal protein S27 (Rps27), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_027015)  |
| ENSMUST00000196205.4  | Rps27   | 0 | 0.008872341  | 0.09905442   | -0.216708914 | Rps27 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000223428.1  | Gm11361 | 0 | 0.008681592  | 0.302826258  | -0.549327325 | Gm11361 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000053150.7  | Rps27rt | 0 | 0.002715112  | 0.105603517  | -0.285896869 | Mus musculus ribosomal protein S27, retrogene (Rps27rt), mRNA. (from RefSeq NM_001190258)  |
| ENSMUST00000236336.1  | Fau     | 0 | -0.017519545 | 0.032981199  | -0.347562644 | Fau (from geneSymbol)  |
| ENSMUST0000043074.13  | Fau     | 0 | -0.018203795 | -0.060571568 | -0.410232478 | Fau (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000237840.1  | Fau     | 0 | -0.018203795 | -0.060571568 | -0.410232478 | Fau (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000178310.8  | Fau     | 0 | -0.018203795 | -0.060571568 | -0.410232478 | Mus musculus Finkel-Biskis-Reilly murine sarcoma virus (FBR-MuSV) ubiquitously expressed (fox  |

|                       |        |   |              |              |              |   |
|-----------------------|--------|---|--------------|--------------|--------------|---|
| ENSMUST00000236217.1  | Fau    | 0 | -0.018203795 | -0.060571568 | -0.410232478 | derived) (Fau), transcript variant 1, mRNA. (from RefSeq NM_007990)   |
| ENSMUST00000179142.1  | Fau    | 0 | -0.018203795 | -0.060571568 | -0.410232478 | Fau (from geneSymbol)<br>Mus musculus Finkel-Biskis-Reilly murine sarcoma virus (FBR-MuSV) ubiquitously expressed (fox derived) (Fau), transcript variant 3, mRNA. (from RefSeq NM_001190436) |
| ENSMUST00000218221.1  | Rps12  | 0 | -0.01926275  | -0.03859008  | -0.484415089 | Rps12 (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000153744.1  | Fkbp5  | 0 | -0.029411736 | -1.83094651  | -1.508009028 | Contains 1 PPIase FKBP-type domain. (from UniProt B8JJC2)   |
| ENSMUST00000237859.1  | Fau    | 0 | -0.034920388 | 0.005535205  | -0.566911085 | Fau (from geneSymbol)   |
| ENSMUST00000067384.5  | Rhob   | 0 | -0.047847248 | 0.55679701   | 0.559228795  | Mus musculus ras homolog family member B (Rhob), mRNA. (from RefSeq NM_007483)  |
| ENSMUST00000107096.1  | Rps3   | 0 | -0.052424184 | 0.140599502  | -0.488365534 | Belongs to the ribosomal protein S3P family. (from UniProt D3YV43)  |
| ENSMUST00000218107.1  | Rps12  | 0 | -0.061807101 | 0.12463447   | -0.45341947  | Mus musculus ribosomal protein S12 (Rps12), mRNA. (from RefSeq NM_011295)   |
| ENSMUST00000220070.1  | Rps12  | 0 | -0.061807101 | 0.12463447   | -0.45341947  | Belongs to the ribosomal protein S12e family. (from UniProt Q6ZWW6)   |
| ENSMUST00000150815.5  | Rpl9   | 0 | -0.063745221 | 0.263501929  | -0.489394582 | Rpl9 (from geneSymbol)  |
| ENSMUST00000059980.10 | Rpl37a | 0 | -0.066437741 | 0.33831199   | -0.594548494 | Mus musculus ribosomal protein L37a (Rpl37a), mRNA. (from RefSeq NM_009084)   |
| ENSMUST00000029722.6  | Rps3a1 | 0 | -0.086521627 | 0.308647386  | -0.389570554 | Mus musculus ribosomal protein S3A1 (Rps3a1), mRNA. (from RefSeq NM_016959)   |

表20. *Mt*のmRNA発現変化 (図10Dに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Transcript fold change (log2) ( <i>If3<sup>+/+</sup></i> Control / <i>If3<sup>+/+</sup></i> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>If3<sup>ΔPLD</sup></i> WIRS / <i>If3<sup>+/+</sup></i> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>If3<sup>ΔPLD</sup></i> Δ <sup>PLD</sup> Control / <i>If3<sup>+/+</sup></i> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>If3<sup>ΔPLD</sup></i> Δ <sup>PLD</sup> WIRS / <i>If3<sup>+/+</sup></i> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|--|--|---|---|
| ENSMUST0000082407.1    | mt-Atp8     | 0  | 0.506391008  | 0.718363905  | 1.175438393   | Mitochondrial membrane ATP synthase (F1)F(0) ATP synthase or Complex V) produces ATP from ADP in the presence of a proton gradient across the membrane which is generated by electron transport complexes of the respiratory chain. F-type ATPases consist of two structural domains, F(1) - containing the extramembraneous catalytic core and F(0) - containing the membrane proton channel, linked together by a central stalk and a peripheral stalk. During catalysis, ATP synthesis in the catalytic domain of F(1) is coupled via a rotary mechanism of the central stalk subunits to proton translocation. Part of the complex F(0) domain. Minor subunit located with subunit a in the membrane (By similarity). (from UniProt Q7JCZ0) |
| ENSMUST0000082405.1    | mt-Co2      | 0  | 0.468704651  | 0.44672808   | 1.251492067   | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the   |

|                     |         |   |             |             |              |  |
|---------------------|---------|---|-------------|-------------|--------------|--|
| ENSMUST0000082409.1 | mt-Co3  | 0 | 0.45580171  | 0.238336271 | 1.222467092  | bimetallic center of the catalytic subunit I (By similarity). (from UniProt Q7JCZ1)  |
| ENSMUST0000082411.1 | mt-Nd3  | 0 | 0.427897801 | 0.494883951 | 1.155274834  | Subunits I, II and III form the functional core of the enzyme complex (By similarity). (from UniProt Q7JCX7)<br>Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7GIP5) |
| ENSMUST0000082402.1 | mt-Co1  | 0 | 0.375333073 | 0.239777644 | 1.0953379699 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. CO I is the catalytic subunit of the enzyme. Electrons originating in cytochrome c are transferred via the copper A center of subunit 2 and heme A of subunit 1 to the bimetallic center formed by heme A3 and copper B (By similarity). (from UniProt Q9MD68)  |
| ENSMUST0000082421.1 | mt-Cytb | 0 | 0.363001752 | 0.442248183 | 0.977651137  | Component of the ubiquinol-cytochrome c reductase complex (complex III or cytochrome b-c1 complex), which is a respiratory chain that generates an electrochemical potential coupled to ATP synthesis (By similarity). (from UniProt Q7JCZ3)   |

|                      |         |   |             |             |             |  |
|----------------------|---------|---|-------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000082392.1 | mt-Nd1  | 0 | 0.351115204 | 0.428930465 | 0.923452395 | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q4JFN6)  |
| ENSMUST00000082408.1 | mt-Atp6 | 0 | 0.337101356 | 0.388525994 | 0.887657089 | Mitochondrion inner membrane; Multi-pass membrane protein (By similarity). (from UniProt Q7JCY9)   |
| ENSMUST00000084013.1 | mt-Nd4l | 0 | 0.27020193  | 0.708297987 | 0.678565381 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD77) |
| ENSMUST00000082396.1 | mt-Nd2  | 0 | 0.228455984 | 0.665037104 | 0.638723905 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD59) |
| ENSMUST00000082414.1 | mt-Nd4  | 0 | 0.151204001 | 0.565185104 | 0.552731529 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron   |

|                      |        |   |              |             |              |   |
|----------------------|--------|---|--------------|-------------|--------------|---|
| ENSMUST00000082418.1 | mt-Nd5 | 0 | 0.034983286  | 0.602614051 | 0.539187867  | acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7JCY6)<br><br>Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD82) |
| ENSMUST00000082419.1 | mt-Nd6 | 0 | -0.352116984 | 0.510466148 | -2.305439305 | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q7JCY4)   |

表21. *Mt*の翻訳変化 (図10Eに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Tranlation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP1LD/ΔP1LD</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP1LD/ΔP1LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description   |
|------------------------|-------------|--|---|--|--|
| ENSMUST00000082418.1   | mt-Nd5      | 0  | 0.338990994   | 0.526371244  | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD82) |
| ENSMUST00000082419.1   | mt-Nd6      | 0  | 0.125264747   | 0.875833734  | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q7JCY4)  |
| ENSMUST00000082396.1   | mt-Nd2      | 0  | 0.213811135   | 0.369417045  | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD59) |

|                      |         |   |              |             |             |   |
|----------------------|---------|---|--------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST00000082421.1 | mt-Cytb | 0 | 0.052289834  | 0.418933925 | 0.644979024 | Component of the ubiquinol-cytochrome c reductase complex (complex III or cytochrome b-c1 complex), which is a respiratory chain that generates an electrochemical potential coupled to ATP synthesis (By similarity). (from UniProt Q7JCZ3)  |
| ENSMUST00000082402.1 | mt-CoI  | 0 | 0.008915104  | 0.296545236 | 0.618527838 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. CO I is the catalytic subunit of the enzyme. Electrons originating in cytochrome c are transferred via the copper A center of subunit 2 and heme A of subunit 1 to the bimetallic center formed by heme A3 and copper B (By similarity). (from UniProt Q9MD68) |
| ENSMUST00000082414.1 | mt-Nd4  | 0 | -0.004905869 | 0.352477014 | 0.223994121 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7JCY6)  |
| ENSMUST00000082409.1 | mt-Co3  | 0 | -0.007802809 | 0.34563318  | 0.625354361 | Subunits I, II and III form the functional core of the enzyme complex (By similarity). (from UniProt Q7JCX7)  |
| ENSMUST00000082408.1 | mt-Atp6 | 0 | -0.029007505 | 0.395480326 | 0.597687977 | Mitochondrion inner membrane; Multi-pass membrane protein (By similarity). (from UniProt Q7JCY9)  |



|                      |         |   |              |             |             |  |
|----------------------|---------|---|--------------|-------------|-------------|--|
| ENSMUST00000082392.1 | mt-Nd1  | 0 | -0.032369293 | 0.467903429 | 0.390525984 | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q4JFN6)  |
| ENSMUST00000084013.1 | mt-Nd41 | 0 | -0.034582    | 0.279782849 | 0.632200629 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD77) |
| ENSMUST00000082411.1 | mt-Nd3  | 0 | -0.098383308 | 0.376478678 | 0.799833383 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7GIF5) |

|                     |         |   |              |             |             |   |
|---------------------|---------|---|--------------|-------------|-------------|---|
| ENSMUST0000082407.1 | mt-Atp8 | 0 | -0.101413315 | 0.076449331 | 0.709579005 | <p>Mitochondrial membrane ATP synthase (F(1)F(0) ATP synthase or Complex V) produces ATP from ADP in the presence of a proton gradient across the membrane which is generated by electron transport complexes of the respiratory chain. F-type ATPases consist of two structural domains, F(1) - containing the extramembraneous catalytic core and F(0) - containing the membrane proton channel, linked together by a central stalk and a peripheral stalk. During catalysis, ATP synthesis in the catalytic domain of F(1) is coupled via a rotary mechanism of the central stalk subunits to proton translocation. Part of the complex F(0) domain. Minor subunit located with subunit a in the membrane (By similarity). (from UniProt Q7JCZ0)</p> |
| ENSMUST0000082405.1 | mt-Co2  | 0 | -0.114406442 | 0.2716503   | 0.520353612 | <p>Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the bimetallic center of the catalytic subunit 1 (By similarity). (from UniProt Q7JCZ1)</p>  |

表22. *Mt*の翻訳効率変化 (図10Fに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description   |
|------------------------|-------------|---|--|---|--|--|
| ENSMUST0000082419.1    | mt-Nd6      | 0   | 0.441096363  | -0.388410407  | 3.133116986  | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q7JCY4)  |
| ENSMUST0000082418.1    | mt-Nd5      | 0   | 0.116985426  | -0.279201975  | -0.054605793   | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD82) |
| ENSMUST0000082396.1    | mt-Nd2      | 0   | -0.163052813   | -0.464645635  | -0.31146715  | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD59) |

|                      |         |   |              |              |              |  |
|----------------------|---------|---|--------------|--------------|--------------|--|
| ENSMUST00000082414.1 | mt-Nd4  | 0 | -0.167849884 | -0.226748016 | -0.369952753 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7JCY6) |
| ENSMUST00000084013.1 | mt-Nd4l | 0 | -0.315694459 | -0.438704809 | -0.085903354 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q9MD77) |
| ENSMUST00000082421.1 | mt-Cytb | 0 | -0.323176646 | -0.036865019 | -0.375283536 | Component of the ubiquinol-cytochrome c reductase complex (complex III or cytochrome b-c1 complex), which is a respiratory chain that generates an electrochemical potential coupled to ATP synthesis (By similarity). (from UniProt Q7JCZ3)   |
| ENSMUST00000082408.1 | mt-Atp6 | 0 | -0.37865059  | -0.006794053 | -0.333242486 | Mitochondrion inner membrane; Multi-pass membrane protein (By similarity). (from UniProt Q7JCY9)   |

|                      |        |   |              |              |              |   |
|----------------------|--------|---|--------------|--------------|--------------|---|
| ENSMUST00000082402.1 | mt-Co1 | 0 | -0.380047536 | 0.044208271  | -0.519978042 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. CO I is the catalytic subunit of the enzyme. Electrons originating in cytochrome c are transferred via the copper A center of subunit 2 and heme A of subunit 1 to the bimetallic center formed by heme A3 and copper B (By similarity). (from UniProt Q9MD68) |
| ENSMUST00000082392.1 | mt-Nd1 | 0 | -0.396415085 | 0.02454688   | -0.5753907   | NADH + ubiquinone = NAD(+) + ubiquinol. (from UniProt Q4JFN6)   |
| ENSMUST00000082409.1 | mt-Co3 | 0 | -0.477161653 | 0.09410966   | -0.64062339  | Subunits I, II and III form the functional core of the enzyme complex (By similarity). (from UniProt Q7JCX7)  |
| ENSMUST00000082411.1 | mt-Nd3 | 0 | -0.537809193 | -0.132399404 | -0.395733066 | Core subunit of the mitochondrial membrane respiratory chain NADH dehydrogenase (Complex I) that is believed to belong to the minimal assembly required for catalysis. Complex I functions in the transfer of electrons from NADH to the respiratory chain. The immediate electron acceptor for the enzyme is believed to be ubiquinone (By similarity). (from UniProt Q7GIP5)  |
| ENSMUST00000082405.1 | mt-Co2 | 0 | -0.595840298 | -0.187674292 | -0.773440939 | Cytochrome c oxidase is the component of the respiratory chain that catalyzes the reduction of oxygen to water. Subunits 1-3 form the functional core of the enzyme complex. Subunit 2 transfers the electrons from cytochrome c via its binuclear copper A center to the   |

|                       |         |   |              |              |              |   |
|-----------------------|---------|---|--------------|--------------|--------------|---|
| ENSUMUST00000082407.1 | mt-Atp8 | 0 | -0.616893019 | -0.652715912 | -0.502478023 | bimetallic center of the catalytic subunit 1 (By similarity).<br>(from UniProt Q7JCZ1)  |
|                       |         |   |              |              |              | Mitochondrial membrane ATP synthase (F1)F(0) ATP synthase or Complex V produces ATP from ADP in the presence of a proton gradient across the membrane which is generated by electron transport complexes of the respiratory chain. F-type ATPases consist of two structural domains, F(1) - containing the extramembrane catalytic core and F(0) - containing the membrane proton channel, linked together by a central stalk and a peripheral stalk. During catalysis, ATP synthesis in the catalytic domain of F(1) is coupled via a rotary mechanism of the central stalk subunits to proton translocation. Part of the complex F(0) domain. Minor subunit located with subunit a in the membrane (By similarity). (from UniProt Q7JCZ0) |

表23. *Hb*のmRNA発現変化 (図10Gに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>Δ<sup>PtLD</sup>Δ<sup>PtLD</sup> Control / <i>Ilf3</i><sup>+/+</sup> Control)</sup> | Transcript fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>Δ<sup>PtLD</sup>Δ<sup>PtLD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i><sup>+/+</sup> Control)</sup> | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|---|--|---|---|
| ENSMUST00000093209.3   | Hba-a1      | 0  | 0.753576577   | 0.022677174  | 1.649645159   | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 1 (Hba-a1), mRNA. (from RefSeq NM_008218)    |
| ENSMUST00000093207.3   | Hba-a2      | 0  | 0.707155743   | 0.012634879  | 1.627587076   | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 2 (Hba-a2), mRNA. (from RefSeq NM_001083955) |
| ENSMUST00000023934.7   | Hbb-bs      | 0  | 0.44393471  | -0.096439463   | 1.188355475   | Mus musculus hemoglobin, beta adult s chain (Hbb-bs), mRNA. (from RefSeq NM_001201391)  |
| ENSMUST00000098192.3   | Hbb-bt      | 0  | 0.441284833   | -0.382528788   | 1.042939874   | Mus musculus hemoglobin, beta adult t chain (Hbb-bt), mRNA. (from RefSeq NM_008220)     |
| ENSMUST00000153218.1   | Hbb-bs      | 0  | 0.332682585   | -0.359335257   | 1.123781125   | Belongs to the globin family. (from UniProt E9Q223)                                     |

表24. *Hb*の翻訳変化 (図10Hに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Tranlation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Translation fold change (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|--|--|---|--|---|
| ENSMUST0000093209.3    | Hba-a1      | 0  | 0.316567927  | 0.104222356   | 1.747312682  | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 1 (Hba-a1), mRNA. (from RefSeq NM_008218)    |
| ENSMUST0000093207.3    | Hba-a2      | 0  | 0.310601733  | 0.121429378   | 1.751165369  | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 2 (Hba-a2), mRNA. (from RefSeq NM_001083955) |
| ENSMUST00000153218.1   | Hbb-bs      | 0  | 0.175820607  | 0.097419566   | 1.401053549  | Belongs to the globin family. (from UniProt E9Q223)                                     |
| ENSMUST0000098192.3    | Hbb-bt      | 0  | 0.114943869  | 0.024183696   | 1.307918229  | Mus musculus hemoglobin, beta adult t chain (Hbb-bt), mRNA. (from RefSeq NM_008220)     |
| ENSMUST0000023934.7    | Hbb-bs      | 0  | 0.100524261  | 0.026451179   | 1.266457203  | Mus musculus hemoglobin, beta adult s chain (Hbb-bs), mRNA. (from RefSeq NM_001201391)  |



表25. *Hb*の翻訳効率変化 (図10Iに関連)

| Ensemble transcript ID | Gene symbol | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD Control / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Fold change of translation efficiency (log2) ( <i>Ilf3</i> <sup>ΔP<sub>1</sub>LD</sup> ΔP <sub>1</sub> LD WIRS / <i>Ilf3</i> <sup>+/+</sup> Control) | Gene description  |
|------------------------|-------------|---|---|---|--|---|
| ENSMUST00000153218.1   | Hbb-bs      | 0   | -0.157514872  | 0.508661191   | 0.26866118   | Belongs to the globin family. (from UniProt E9Q223)                                     |
| ENSMUST00000098192.3   | Hbb-bt      | 0   | -0.336554173  | 0.386990457   | 0.232302081  | Mus musculus hemoglobin, beta adult t chain (Hbb-bt), mRNA. (from RefSeq NM_008220)     |
| ENSMUST00000023934.7   | Hbb-bs      | 0   | -0.357042396  | 0.133531256   | 0.050714841  | Mus musculus hemoglobin, beta adult s chain (Hbb-bs), mRNA. (from RefSeq NM_001201391)  |
| ENSMUST00000093207.3   | Hba-a2      | 0   | -0.408147409  | 0.097305498   | 0.082751472  | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 2 (Hba-a2), mRNA. (from RefSeq NM_001083955) |
| ENSMUST00000093209.3   | Hba-a1      | 0   | -0.44894949   | 0.067901737   | 0.057172087  | Mus musculus hemoglobin alpha, adult chain 1 (Hba-a1), mRNA. (from RefSeq NM_008218)    |

表 26. *Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの網羅的行動解析結果の一覧

| テスト  | 週齢    | <i>Ilf3</i> <sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup> マウスの表現型                        | 図  |
|--|-------|---|----|
| Body weight and body temperature                   | 11-12 | Decreased body weight, increased body temperature                 | 12 |
| Grip strength                                      | 11-12 | N.S.  | 12 |
| Wire hang  | 11-12 | N.S.  | 12 |
| Light/dark transition test                         | 11-12 | Hyperactivity, decreased anxiety-like behavior                    | 13 |
| Open field test                                    | 12    | Hyperactivity, decreased anxiety-like behavior                    | 13 |
| Elevated plus maze                                 | 12    | Hyperactivity   | 13 |
| Hot plate test                                     | 12    | N.S.  | 12 |
| Social interaction test in a novel environment     | 12-13 | Hyperactivity, decreased duration of contact                      | 14 |
| Rotarod test                                       | 13    | N.S.  | 12 |
| Three-chamber social approach test (100 lux)       | 15-16 | Hyperactivity   | 14 |
| Acoustic startle response/prepulse inhibition test | 16    | Decreased startle   | 12 |
| Porsolt forced swim test                           | 16    | N.S.  | 13 |
| Barns maze test                                    | 22-30 | Low task performance in trials after memory retention for a month | 15 |
| T-maze (spontaneous alternation)                   | 30-31 | High task performance   | 15 |
| Contextual and cued fear conditioning test         | 48-53 | Deficits in fear conditioning memory                              | 15 |
| Three-chamber social approach test (5 lux)         | 65-66 | Hyperactivity   | 14 |
| Social interaction test in a home cage             | 82-83 | Hyperactivity   | 14 |
| Tail suspension                                    | 85    | Depression-like behavior  | 13 |

N.S.: no significant differences

## <謝辞>

まず最初に、本研究をどうにか形にできるまでの長きにわたって、ご指導いただいた主任指導教員の椎名伸之博士に心から感謝申し上げます。自由に伸び伸びと自分のペースで好きなように研究ができる場を提供していただき、教員としてはやきもきすることも多かったと思いますが、最後までこちらの意見・方針をしっかりと反映してくださる指導方針は、自分にとっても合っていて、今後の人生でもそう無いだろうと思えるくらい良い研究生活でした。また、研究のディスカッションだけでなく、色々な申請書の添削なども親身にしていただき、多くのことを学ぶことができました。

本研究では、様々な共同研究の方々にお世話になりました。*Ilf3*<sup>ΔPrLD/ΔPrLD</sup>マウスは理研（現北海道大学）の中川真一博士とテクニカルスタッフの水戸麻理氏に作製していただきました。網羅的行動解析は富山大学の高雄啓三博士と藤井一希博士および高雄研究室のメンバーの方々にお手伝いしていただきました。RNA-seqとribosome profilingは理研の岩崎信太郎博士と七野悠一博士のご指導のもと行いました。また、RNA-seqとribosome profiling実験ではテクニカルスタッフの水戸麻理氏にお手伝いしていただきました。以上の方々に深く感謝申し上げます。

また、本研究では基礎生物学研究所の方々にお世話になりました。モデル動物研究支援施設の作田拓博士、渡辺英治博士（神経生理学研究室）、野口裕司氏、大澤園子氏（現進化ゲノミクス研究室）、高木由香利氏、林晃司氏（現細胞動態研究部門）、他スタッフの方々には、山手地区でのマウス飼育等でお世話になりました。特に大澤園子氏には*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスの作製で大変お世話になりました。また、野口裕司氏、高木由香利氏および統合神経生物学研究部門（現名古屋産業科学研究所）の藤川顕寛博士には小型動物解析室の運用などでお手伝いしていただきました。マウス脳切片作製では、進化発生研究部門（新美研究室）およびバイオイメージング解析室のクライオスタットを利用させていただきました。その際、新美輝幸博士と千頭康彦博士には大変親切にさせていただきました。拘束水浸ストレスで用いたファルコンチューブを加工した拘束具の作製の際には、工具の使用などでモデル植物研究支援施設の諸岡直樹氏にお世話になりました。免疫染色の画像取得はバイオイメージ

ング解析室のニコンA1を利用させていただきました。RT-qPCRはトランスオミクス解析室のABI 7500 RealTimePCR Systemを利用させていただきました。木下典行博士には論文投稿などで相談に乗っていただきました。小山宏史博士には、ImageJを用いた画像解析やマクロの書き方など教えていただきました。また、木下博士と小山博士両氏にはテニスで大変お世話になりました。生命科学プログレスを担当していただいた東島眞一博士、野中茂紀博士、新谷隆史博士、児玉隆治博士には、研究内容や発表の仕方などをご指導いただくとともに、様々な面白い話なども聞かせてくださいました。研究進捗発表を合同で行っていた形態形成部門（上野研究室）と時空間制御グループ（野中研究室）のメンバーからは、研究内容に対するディスカッションだけでなく、発表の心構えなど多くのことを学びました。特に、*Ilf3*<sup>+/-</sup>マウスと*Ilf3*<sup>ΔPrLD/-</sup>マウスの作製および追加実験は上野直人博士の提案であり、これによってよりNFAR2 PrLDのマウスの行動における役割を明確にできました。以上の方々および基礎生物学研究所で交流のあった全ての方々に深く感謝申し上げます。

神経細胞生物学研究室（椎名研究室）のメンバーにも感謝申し上げます。私が入学した当時のメンバーである、当時助教だった中山啓博士（現神戸薬科大学）、技術支援員だった松田知里氏、大学院生だった大橋りえ博士（現椎名研助教）、片山香織博士には、研究や日々の生活など様々な場面でお世話になりました。特に松田知里氏からはマウスの扱いなどを1から教えていただき、本研究の礎となりました。また、後輩の堀尾朋世氏は研究室で起きた様々な問題を解決していただき頭が上がりません。

最後に、大学院生活を支えていただいた家族に感謝の意を表します。

## < 参考文献 >

- Agca, C., Boldt, K., Gubler, A., Meneau, I., Corpet, A., Samardzija, M., Stucki, M., Ueffing, M., and Grimm, C. (2015) Expression of leukemia inhibitory factor in Müller glia cells is regulated by a redox-dependent mRNA stability mechanism. *BMC Biol.* *13*, 30. <https://doi.org/10.1186/s12915-015-0137-1>.
- Alberti, S., and Hyman, A. A. (2021) Biomolecular condensates at the nexus of cellular stress, protein aggregation disease and ageing. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* *22*(3):196-213. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00326-6>.
- Allemand, E., Guil, S., Myers, M., Moscat, J., Cáceres, J. F., and Krainer, A. R. (2005) Regulation of heterogenous nuclear ribonucleoprotein A1 transport by phosphorylation in cells stressed by osmotic shock. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* *102*, 3605-3610. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409889102>.
- Babaev, O., Piletti Chatain, C., and Krueger-Burg, D. (2018) Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. *Exp. Mol. Med.* *50*, 1-16. <https://doi.org/10.1038/s12276-018-0063-8>.
- Babu, M. M. (2016) The contribution of intrinsically disordered regions to protein function, cellular complexity, and human disease. *Biochem. Soc. Trans.* *44*, 1185-1200. <https://doi.org/10.1042/BST20160172>.
- Banani, S. F., Lee, H.O., Hyman, A. A., and Rosen, M.K. (2017) Biomolecular condensates: organizers of cellular biochemistry. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* *18*(5), 285-298. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.7>.
- Battle, C., de Groot, N. S., Iglesias, V., Navarro, S., and Ventura, S. (2017) Characterization of Soft Amyloid Cores in Human Prion-Like Proteins. *Sci Rep.* *7*, 12134. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09714-z>.
- Boeynaems, S., Alberti, S., Fawzi, N.L., Mittag, T., Polymenidou, M., Rousseau, F., Schymkowitz, J., Shorter, J., Wolozin, B., Bosch, L. V. D., Tompa, P., and Fuxreiter, M. (2018) Protein phase separation: a new phase in cell biology. *Trends Cell Biol.* *28*, 420-435. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.02.004>.

- Bontekoe, C. J. M., McIlwain, K. L., Nieuwenhuizen, I. M., Yuva-Paylor, L. A., Nellis, A., Willemsen, R., Fang, Z., Kirkpatrick, L., Bakker, C. E., McAninch, R., Cheng, N. C., Merriweather, M., Hoogeveen, A. T., Nelson, D., Paylor, R., and Oostra, B. A. (2002) Knockout mouse model for *Fxr2*: a model for mental retardation. *Hum. Mol. Genet.* *11*, 487-498. <https://doi.org/10.1093/hmg/11.5.487>.
- Brownawell, A. M., and Macara, I. G. (2002) Exportin-5, a novel karyopherin, mediates nuclear export of double-stranded RNA binding proteins. *J. Cell Biol.* *156*, 53-64. <https://doi.org/10.1083/jcb.200110082>.
- Castella, S., Bernard, R., Corno, M., Fradin, A., and Larcher J. C. (2015) Iif3 and NF90 functions in RNA biology. *Wiley Interdiscip Rev RNA* *6*, 243-256. <https://doi.org/10.1002/wrna.1270>.
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y., and Gu, J. (2018) fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* *34*, i884-i890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>.
- Cunningham, F., Allen, J. E., Allen, J., Alvarez-Jarreta, J., Amode, M. R., Armean, I. M., Austine-Orimoloye, O., Azov, A. G., Barnes, I., Bennett, R., et al. (2022) Ensembl 2022. *Nucleic Acids Res.* *50*(D1), D988-D995. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1049>.
- Davis, M. W. and Jorgensen, E. M. (2022) ApE, A plasmid editor: a freely available DNA manipulation and visualization program. *Front. Bioinform.* *2*, 818619. <https://doi.org/10.3389/fbinf.2022.818619>.
- Deshaies, J. E., Shkreta, L., Moszczynski, A. J., Sidibé, H., Semmler, S., Fouillen, A., Bennett, E. R., Bekenstein, U., Destroismaisons, L., Toutant, J., Delmotte, Q., Volkening, K., Stabile, S., Aulas, A., Khalfallah, Y., Soreq, H., Nanci, A., Strong, M. J., Chabot, B., and Vande Velde, C. (2018) TDP-43 regulates the alternative splicing of hnRNP A1 to yield an aggregation-prone variant in amyotrophic lateral sclerosis. *Brain* *141*, 1320-1333. <https://doi.org/10.1093/brain/awy062>.
- Dorone, Y., Boeynaems, S., Flores, E., Jin, B., Hateley, S., Bossi, F., Lazarus, E., Pennington, J. G., Michiels, E., Decker, M. D., Vints, K., Baatsen, P., Bassel, G. W., Otegui, M. S., Holehouse, A. S., Exposito-Alonso, M., Sukenik, S., Gitler, A. D., and Rhee, S. Y. (2021)

- A prion-like protein regulator of seed germination undergoes hydration-dependent phase separation. *Cell* 184, 4284-4298. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.009>.
- Duchange, N., Pidoux, J., Camus, E., and Sauvaget, D. (2000) Alternative splicing in the human interleukin enhancer binding factor 3 (ILF3) gene. *Gene* 261, 345-353. [https://doi.org/10.1016/s0378-1119\(00\)00495-9](https://doi.org/10.1016/s0378-1119(00)00495-9).
- Dunker, A.K., Oldfield, C.J., Meng, J., Romero, P., Yang, J.Y., Chen, J.W., Vacic, V., Obradovic, Z., and Uversky, V.N. (2008) The unfoldomics decade: an update on intrinsically disordered proteins. *BMC Genomics*. 9 (Suppl 2), S1. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-S2-S1>.
- Dyson, H. J., and Wright, P. E. (2005) Intrinsically unstructured proteins and their functions. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 6(3):197-208. doi: 10.1038/nrm1589.
- Fanselow, M. S., and Dong, H. W. (2010) Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* 65, 7-19. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2009.11.031>.
- Franzmann, T., and Alberti, S. (2019) Prion-like low-complexity sequences: key regulators of protein solubility and phase behavior. *J. Biol. Chem.* 294, 7128–7136. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.001190>.
- Fujii, K., Koshidaka, Y., Adachi, M., and Takao, K. (2019) Effects of chronic fentanyl administration on behavioral characteristics of mice. *Neuropsychopharmacol. Rep.* 39, 17-35. <https://doi.org/10.1002/npr2.12040>.
- Gomes, E., and Shorter, J., (2019) The molecular language of membraneless organelles. *J. Biol. Chem.* 294, 7115-7127. <https://doi.org/10.1074/jbc.TM118.001192>.
- Gotor, N. L., Armaos, A., Calloni, G., Burgas, M. T., Vabulas, R. M., De Groot, N. S., and Tartaglia, G. G. (2020) RNA-binding and prion domains: the Yin and Yang of phase separation. *Nucleic Acids Res.* 48(17), 9491-9504. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa681>.
- Halfmann, R., Jarosz, D. F., Jones, S. K., Chang, A., Lancaster, A. K., and Lindquist, S. (2012) Prions are a common mechanism for phenotypic inheritance in wild yeasts. *Nature* 482, 363-368. <https://doi.org/10.1038/nature10875>.
- Harashima, A., Guettouche, T., and Barber, G. N. (2010) Phosphorylation of the NFAR proteins by the dsRNA-dependent protein kinase PKR constitutes a novel mechanism of

- translational regulation and cellular defense. *Genes Dev.* 24, 2640-2653. <https://doi.org/10.1101/gad.1965010>.
- Harrison, A. F., and Shorter, J. (2017) RNA-binding proteins with prion-like domains in health and disease. *Biochem. J.* 474(8), 1417-1438. <https://doi.org/10.1042/BCJ20160499>.
- Haynes, C., Oldfield, C.J., Ji, F., Klitgord, N., Cusick, M.E., Radivojac, P., Uversky, V.N., Vidal, M., and Iakoucheva, L.M. (2006) Intrinsic disorder is a common feature of hub proteins from four eukaryotic interactomes, *PLoS. Comput. Biol.* 2, e100. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0020100>.
- Huynh, D. P., Maalouf, M., Silva, A. J., Schweizer, F. E., and Pulst, S. M. (2009) Dissociated fear and spatial learning in mice with deficiency of ataxin-2. *PLoS One* 4, e6235. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006235>.
- Innos, J., Philips, M. A., Raud, S., Lilleväli, K., Kõks, S., and Vasar, E. (2012) Deletion of the *Lsamp* gene lowers sensitivity to stressful environmental manipulations in mice. *Behav. Brain Res.* 228, 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.11.033>.
- Isobe, M., Toya, H., Mito, M., Chiba, T., Asahara, H., Hirose, T., and Nakagawa, S. (2020) Forced isoform switching of *Neat1\_1* to *Neat1\_2* leads to the loss of *Neat1\_1* and the hyperformation of paraspeckles but does not affect the development and growth of mice. *RNA* 26, 251-264. <https://doi.org/10.1261/rna.072587.119>.
- Jia, R., Ajiro, M., Yu, L., McCoy, P. Jr., and Zheng Z. M. (2019) Oncogenic splicing factor SRSF3 regulates ILF3 alternative splicing to promote cancer cell proliferation and transformation. *RNA* 25, 630-644. <https://doi.org/10.1261/rna.068619.118>.
- Jones, D. T., and Cozzetto, D. (2015) DISOPRED3: precise disordered region predictions with annotated protein-binding activity. *Bioinformatics* 31, 857-863. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu744>.
- Jung, J. H., Barbosa, A. D., Hutin, S., Kumita, J. R., Gao, M., Derwort, D., Silva, C. S., Lai, X., Pierre, E., Geng, F., Kim, S. B., Baek, S., Zubieta, C., Jaeger, K. E., and Wigge, P. A. (2020) A prion-like domain in ELF3 functions as a thermosensor in Arabidopsis. *Nature* 585, 256-260. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2644-7>.



- Kato, M., Han, T. W., Xie, S., Shi, K., Du, X., Wu, L. C., Mirzaei, H., Goldsmith, E. J., Longgood, J., Pei, J., Grishin, N. V., Frantz, D. E., Schneider, J. W., Chen, S., Li, L., Sawaya, M. R., Eisenberg, D., Tycko, R., and McKnight, S. L. (2012) Cell-free formation of RNA granules: low complexity sequence domains form dynamic fibers within hydrogels. *Cell* 149, 753-767. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.04.017>.
- Kim, H. J., Kim, N. C., Wang, Y. D., Scarborough, E. A., Moore, J., Diaz, Z., MacLea, K. S., Freibaum, B., Li, S., Molliex, A., Kanagaraj, A. P., Carter, R., Boylan, K. B., Wojtas, A. M., Rademakers, R., Pinkus, J. L., Greenberg, S. A., Trojanowski, J. Q., Traynor, B. J., Smith, B. N., Topp, S., Gkazi, A. S., Miller, J., Shaw, C. E., Kottlors, M., Kirschner, J., Pestronk, A., Li, Y. R., Ford, A. F., Gitler, A. D., Benatar, M., King, O. D., Kimonis, V. E., Ross, E. D., Weihl, C. C., Shorter, J., and Taylor, J. P. (2013) Mutations in prion-like domains in hnRNPA2B1 and hnRNPA1 cause multisystem proteinopathy and ALS. *Nature*. 495(7442), 467-73. <https://doi.org/10.1038/nature11922>.
- Kim, W. B., and Cho J. H. (2020) Encoding of contextual fear memory in hippocampal-amygdala circuit. *Nat. Commun.* 11, 1382. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15121-2>.
- Komada, M., Takao, K., and Miyakawa, T. (2008) Elevated plus maze for mice. *J. Vis. Exp.* 22, <https://doi.org/1088.10.3791/1088>.
- Kuwano, Y., Kim, H. H., Abdelmohsen, K., Pullmann, R., Jr, Martindale, J. L., Yang, X., and Gorospe, M. (2008) MKP-1 mRNA stabilization and translational control by RNA-binding proteins HuR and NF90. *Mol. Cell Biol.* 28, 4562-75. <https://doi.org/10.1128/MCB.00165-08>.
- Lamprecht, R., Dracheva, S., Assoun, S., and LeDoux, J. E. (2009) Fear conditioning induces distinct patterns of gene expression in lateral amygdala. *Genes Brain Behav.* 8, 735-743. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2009.00515.x>.
- Lancaster, A. K., Nutter-Upham, A., Lindquist, S., and King, O. D. (2014) PLAAC: a web and command-line application to identify proteins with prion-like amino acid composition. *Bioinformatics* 30, 2501-2502. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu310>.

- Lee, Y. B., Scotter, E. L., Lee, D. Y., Troakes, C., Mitchell, J., Rogelj, B., Gallo, J. M., and Shaw, C. E. (2021) Cytoplasmic TDP-43 is involved in cell fate during stress recovery. *Hum. Mol. Genet.* *31*, 166-175. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddab227>.
- Letunic, I., Khedkar, S., and Bork, P. (2021) SMART: recent updates, new developments and status in 2020. *Nucleic Acids Res.* *49*(D1), D458-D460. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa937>.
- Ling, S. C., Polymenidou, M., and Cleveland, D. W. (2013) Converging mechanisms in ALS and FTD: disrupted RNA and protein homeostasis. *Neuron* *79*, 416–438. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.033>.
- Love, M. I., Huber, W., and Anders, S. (2014) Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biol.* *15*, 550. <https://doi.org/10.1186/s13059-014-0550-8>.
- Lykke-Andersen, S., and Jensen, T. H. (2015) Nonsense-mediated mRNA decay: an intricate machinery that shapes transcriptomes. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* *16*, 665-677. <https://doi.org/10.1038/nrm4063>.
- Maharana, S., Wang, J., Papadopoulos, D. K., Richter, D., Pozniakovsky, A., Poser, I., Bickle, M., Rizk, S., Guillén-Boixet, J., Franzmann, T. M., Jahnel, M., Marrone, L., Chang, Y. T., Sternecker, J., Tomancak, P., Hyman, A. A., and Alberti, S. (2018) RNA buffers the phase separation behavior of prion-like RNA binding proteins. *Science* *360*, 918-921. <https://doi.org/10.1126/science.aar7366>.
- March, Z. M., King, O. D., and Shorter, J. (2016) Prion-like domains as epigenetic regulators, scaffolds for subcellular organization, and drivers of neurodegenerative disease. *Brain Res.* *1647*, 9-18. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.02.037>.
- Matsuo, N., Takao, K., Nakanishi, K., Yamasaki, N., Tanda, K., and Miyakawa, T. (2010) Behavioral profiles of three C57BL/6 substrains. *Front. Behav. Neurosci.* *4*, 29. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2010.00029>.
- McGlinchy, N. J., and Ingolia, N. T. (2017) Transcriptome-wide measurement of translation by ribosome profiling. *Methods.* *126*, 112-129. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2017.05.028>.

- Miller, M. W., and Sadeh, N. (2014) Traumatic stress, oxidative stress and post-traumatic stress disorder: neurodegeneration and the accelerated-aging hypothesis. *Mol. Psychiatry*. *19*(11), 1156-1162. <https://doi.org/10.1038/mp.2014.111>.
- Mito, M., Mishima, Y., and Iwasaki, S. (2020) Protocol for disome profiling to survey ribosome collision in humans and zebrafish. *STAR Protoc*. *1*, 100168. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2020.100168>.
- Miyata, S., Koyama, Y., Takemoto, K., Yoshikawa, K., Ishikawa, T., Taniguchi, M., Inoue, K., Aoki, M., Hori, O., Katayama, T., and Tohyama, M. (2011) Plasma corticosterone activates SGK1 and induces morphological changes in oligodendrocytes in corpus callosum. *PLoS One*. *6*, e19859. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019859>.
- Moy, S. S., Nadler, J. J., Perez, A., Barbaro, R. P., Johns, J. M., Magnuson, T. R., Piven, J., and Crawley, J. N. (2004) Sociability and preference for social novelty in five inbred strains: an approach to assess autistic-like behavior in mice. *Genes Brain Behav*. *3*, 287-302. <https://doi.org/10.1111/j.1601-1848.2004.00076.x>.
- Nakayama, K., Ohashi, R., Shinoda, Y., Yamazaki, M., Abe, M., Fujikawa, A., Shigenobu, S., Futatsugi, A., Noda, M., Mikoshiba, K., Furuichi, T., Sakimura, K., and Shiina, N. (2017) RNG105/caprin1, an RNA granule protein for dendritic mRNA localization, is essential for long-term memory formation. *eLife*. *6*, e29677. <https://doi.org/10.7554/eLife.29677>.
- Nakazawa, K., Shichino, Y., Iwasaki, S., and Shiina, N. (2020) Implications of RNG140 (caprin2)-mediated translational regulation in eye lens differentiation. *J. Biol. Chem*. *295*, 15029-15044. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.012715>.
- Niklas, K. J., Bondos, S. E., Dunker, A. K., and Newman, S. A. (2015) Rethinking gene regulatory networks in light of alternative splicing, intrinsically disordered protein domains, and post-translational modifications. *Front. Cell Dev. Biol*. *3*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcell.2015.00008>.
- Niklas, K. J., Dunker, A. K., and Yruela, I. (2018) The evolutionary origins of cell type diversification and the role of intrinsically disordered proteins. *J. Exp. Bot*. *69*, 1437-1446. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx493>.

- Ohashi, R., Takao, K., Miyakawa, T., and Shiina, N. (2016) Comprehensive behavioral analysis of RNG105 (Caprin1) heterozygous mice: Reduced social interaction and attenuated response to novelty. *Sci. Rep.* *6*, 20775. <https://doi.org/10.1038/srep20775>.
- Oka, T. (2015) Psychogenic fever: how psychological stress affects body temperature in the clinical population. *Temperature (Austin)* *2*, 368-378. <https://doi.org/10.1080/23328940.2015.1056907>.
- Pardon, M. C., Kendall, D. A., Pérez-Díaz, F., Duxon, M. S., and Marsden, C. A. (2004) Repeated sensory contact with aggressive mice rapidly leads to an anticipatory increase in core body temperature and physical activity that precedes the onset of aversive responding. *Eur. J. Neurosci.* *20*, 1033-1050. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03549.x>.
- Parrott, A. M., Walsh, M. R., Reichman, T. W., and Mathews, M. B. (2005) RNA binding and phosphorylation determine the intracellular distribution of nuclear factors 90 and 110. *J. Mol. Biol.* *348*, 281-293. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2005.02.047>.
- Patel, A., Lee, H. O., Jawerth, L., Maharana, S., Jahnel, M., Hein, M. Y., Stoyanov, S., Mahamid, J., Saha, S., Franzmann, T. M., Pozniakovski, A., Poser, I., Maghelli, N., Royer, L. A., Weigert, M., Myers, E. W., Grill, S., Drechsel, D., Hyman, A. A., and Alberti, S. (2015) A liquid-to-solid phase transition of the ALS protein FUS accelerated by disease mutation. *Cell.* *162*(5), 1066-1077. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.047>.
- Pfeifer, I., Elsby, R., Fernandez, M., Faria, P. A., Nussenzveig, D. R., Lossos, I. S., Fontoura, B. M., Martin, W. D., and Barber G. N. (2008) NFAR-1 and -2 modulate translation and are required for efficient host defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* *105*, 4173-4178. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711222105>.
- Phelps, E. A., and LeDoux, J. E. (2005) Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron* *48*, 175-187. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2005.09.025>.
- Pimenta, A. F., Zhukareva, V., Barbe, M. F., Reinoso, B. S., Grimley, C., Henzel, W., Fischer, I., and Levitt, P. (1995) The limbic system-associated membrane protein is an

- Ig superfamily member that mediates selective neuronal growth and axon targeting. *Neuron* 15, 287-297. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90034-9](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90034-9).
- Pires-daSilva, A., Nayernia, K., Engel, W., Torres, M., Stoykova, A., Chowdhury, K., and Gruss, P. (2001) Mice deficient for spermatid perinuclear RNA-binding protein show neurologic, spermatogenic, and sperm morphological abnormalities. *Dev. Biol.* 233, 319-328. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0169>.
- Porsolt, R. D., Bertin, A., and Jalfre, M. (1977) Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 229, 327-336.
- Portz, B., Lee, B. L., and Shorter, J. (2021) FUS and TDP-43 phases in health and disease. *Trends Biochem Sci.* 46, 550–563. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.12.005>.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reichman, T. W., Muñoz, L. C., and Mathews, M. B. (2002) The RNA binding protein nuclear factor 90 functions as both a positive and negative regulator of gene expression in mammalian cells. *Mol. Cell Biol.* 2002 22(1), 343-56. <https://doi.org/10.1128/MCB.22.1.343-356.2002>.
- Reichman, T. W., and Mathews, M. B. (2003) RNA binding and intramolecular interactions modulate the regulation of gene expression by nuclear factor 110. *RNA.* 9(5), 543-554. <https://doi.org/10.1261/rna.2181103>.
- Reichman, T. W., Parrott, A. M., Fierro-Monti, I., Caron, D. J., Kao, P. N., Lee C. G., Li, H., and Mathews, M. B. (2003) Selective regulation of gene expression by nuclear factor 110, a member of the NF90 family of double-stranded RNA-binding proteins. *J. Mol. Biol.* 332, 85-98. [https://doi.org/10.1016/s0022-2836\(03\)00885-4](https://doi.org/10.1016/s0022-2836(03)00885-4).
- Romero, P. R., Zaidi, S., Fang, Y. Y., Uversky, V. N., Radivojac, P., Oldfield, C. J., Cortese, M. S., Sickmeier, M., LeGall, T., Obradovic, Z., and Dunker A. K. (2006) Alternative splicing in concert with protein intrinsic disorder enables increased functional diversity in multicellular organisms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 103, 8390-8395. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507916103>.

- Schelshorn, D. W., Schneider, A., Kuschinsky, W., Weber, D., Krüger, C., Dittgen, T., Bürgers, H. F., Sabouri, F., Gassler, N., Bach, A., and Maurer, M. H. (2009) Expression of hemoglobin in rodent neurons. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 29, 585-595. <https://doi.org/10.1038/jcbfm.2008.152>.
- Schiavone, S., Jaquet, V., Trabace, L., and Krause, K. H. (2013) Severe life stress and oxidative stress in the brain: from animal models to human pathology. *Antioxid. Redox Signal.* 18, 1475-1490. <https://doi.org/10.1089/ars.2012.4720>.
- Schindelin, J., Arganda-Carreras, I., Frise, E., Kaynig, V., Longair, M., Pietzsch, T., Preibisch, S., Rueden, C., Saalfeld, S., Schmid, B., Tinevez, J. Y., White, D. J., Hartenstein, V., Eliceiri, K., Tomancak, P., and Cardona, A. (2012) Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nat. Methods* 9, 676-682. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2019>.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., and Eliceiri, K. W. (2012) NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat. Methods* 9, 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>.
- Sherman, B. T., Hao, M., Qiu, J., Jiao, X., Baseler, M. W., Lane, H. C., Imamichi, T., and Chang, W. (2022) DAVID: a web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res.* 50, W216-221. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac194>.
- Shi, L., Zhao, G., Qiu, D., Godfrey, W. R., Vogel, H., Rando, T. A., Hu, H., and Kao, P. N. (2005) NF90 regulates cell cycle exit and terminal myogenic differentiation by direct binding to the 3'-untranslated region of MyoD and p21WAF1/CIP1 mRNAs. *J. Biol. Chem.* 280, 18981-18989. <https://doi.org/10.1074/jbc.M411034200>.
- Shiina N., and Nakayama, K. (2014) RNA granule assembly and disassembly modulated by nuclear factor associated with double-stranded RNA 2 and nuclear factor 45. *J. Biol. Chem.* 289, 21163-21180. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.556365>.
- Shimizu, K. and Toh, H. (2009) Interaction between intrinsically disordered proteins frequently occurs in a human protein-protein interaction network. *J. Mol. Biol.* 392, 1253-1265. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2009.07.088>.

- Shoji, H., Hagihara, H., Takao, K., Hattori, S., and Miyakawa, T. (2012) T-maze forced alternation and left-right discrimination tasks for assessing working and reference memory in mice. *J. Vis. Exp.* 26, 3300. <https://doi.org/10.3791/3300>.
- Shoji, H., Takao, K., Hattori, S., and Miyakawa, T. (2014) Contextual and cued fear conditioning test using a video analyzing system in mice. *J. Vis. Exp.* 85, 50871. <https://doi.org/10.3791/50871>.
- Shoji, H., Takao, K., Hattori, S., and Miyakawa, T. (2016) Age-related changes in behavior in C57BL/6J mice from young adulthood to middle age. *Mol. Brain.* 9, 11. <https://doi.org/10.1186/s13041-016-0191-9>.
- Stankiewicz, A. M., Goscik, J., Swiergiel, A. H., Majewska, A., Wieczorek, M., Juszcak, G. R., and Lisowski, P. (2014) Social stress increases expression of hemoglobin genes in mouse prefrontal cortex. *BMC Neurosci.* 15, 130. <https://doi.org/10.1186/s12868-014-0130-6>.
- Takao, K. and Miyakawa, T. (2006) Light/dark transition test for mice. *J. Vis. Exp.* 1, 104. <https://doi.org/10.3791/104>.
- Takao, K., Tanda, K., Nakamura, K., Kasahara, J., Nakao, K., Katsuki, M., Nakanishi, K., Yamasaki, N., Toyama, K., Adachi, M., Umeda, M., Araki, T., Fukunaga, K., Kondo, H., Sakagami, H., and Miyakawa, T. (2010) Comprehensive behavioral analysis of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV knockout mice. *PLoS One* 5, e9460. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009460>.
- Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. (2021) MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38, 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Viranaicken, W., Gasmi, L., Chaumet, A., Durieux, C., Georget, V., Denoulet, P., and Larcher, J. C. (2011) L-Ilf3 and L-NF90 traffic to the nucleolus granular component: alternatively-spliced exon 3 encodes a nucleolar localization motif. *PLoS One* 6, e22296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022296>.

- Wang, I. F., Reddy, N. M., and Shen, C. K. (2002) Higher order arrangement of the eukaryotic nuclear bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* *99*, 13583-13588. <https://doi.org/10.1073/pnas.212483099>.
- Wang J., Choi J. M., Holehouse A. S., Lee H. O., Zhang X., Jahnel M., Maharana S., Lemaitre R., Pozniakovsky A., Drechsel D., Poser I., Pappu R. V., Alberti S., and Hyman A. A. (2018) A molecular grammar governing the driving forces for phase separation of prion-like RNA binding proteins. *Cell* *174*, 688-699. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.006>.
- Ward, J. J., Sodhi, J. S., McGuffin, L. J., Buxton, B. F., and Jones, D. T. (2004) Prediction and functional analysis of native disorder in proteins from the three kingdoms of life. *J. Mol. Biol.* *337*(3), 635-45. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2004.02.002>. PMID: 15019783.
- Weger, M., Alpern, D., Cherix, A., Ghosal, S., Grosse, J., Russeil, J., Gruetter, R., de Kloet, E. R., Deplancke, B., and Sandi, C. (2020) Mitochondrial gene signature in the prefrontal cortex for differential susceptibility to chronic stress. *Sci. Rep.* *10*, 1018308. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75326-9>.
- Weskamp, K., Tank, E. M., Miguez, R., McBride, J. P., Gómez, N. B., White, M., Lin, Z., Gonzalez, C. M., Serio, A., Sreedharan, J., and Barmada, S. J. (2020) Shortened TDP43 isoforms upregulated by neuronal hyperactivity drive TDP43 pathology in ALS. *J. Clin. Invest.* *130*, 1139-1155. <https://doi.org/10.1172/JCI130988>.
- Wickner, R. B. (1994) [URE3] as an altered URE2 protein: evidence for a prion analog in *Saccharomyces cerevisiae*. *Science.* *264*(5158), 566-9. <https://doi.org/10.1126/science.7909170>.
- Woodruff, J. B., Hyman, A. A., and Boke, E. (2018) Organization and function of non-dynamic biomolecular condensates. *Trends Biochem. Sci.* *43*, 81-94. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2017.11.005>.
- Wootton, J. C., and Federhen, S. (1996) Analysis of compositionally biased regions in sequence databases. *Methods Enzymol.* *266*, 554-71. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(96\)66035-2](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(96)66035-2).



- Xue, B., Dunbrack, R. L., Williams, R. W., Dunker, A. K., and Uversky, V. N. (2010) PONDR-FIT: a meta-predictor of intrinsically disordered amino acids. *Biochim. Biophys. Acta. 1804*, 996- <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2010.01.011>.
- Xue, B., Dunker, A. K., and Uversky V. N. (2012) Orderly order in protein intrinsic disorder distribution: disorder in 3500 proteomes from viruses and the three domains of life. *J. Biomol. Struct. Dyn.* *30*, 137-149. <https://doi.org/10.1080/07391102.2012.675145>.
- Yang, H., Xia, L., Chen, J., Zhang, S., Martin, V., Li, Q., Lin, S., Chen, J., Calmette, J., Lu, M., Fu, L., Yang, J., Pan, Z., Yu, K., He, J., Morand, E., Schlecht-Louf, G., Krzysiek, R., Zitvogel, L., Kang, B., Zhang, Z., Leader, A., Zhou, P., Lanfumey, L., Shi, M., Kroemer, G., and Ma, Y. (2019) Stress-glucocorticoid-TSC22D3 axis compromises therapy-induced antitumor immunity. *Nat Med.* *25*(9), 1428-1441. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0566-4>.
- Zafir, A., and Banu, N. (2009) Modulation of in vivo oxidative status by exogenous corticosterone and restraint stress in rats. *Stress* *12*, 167-177. <https://doi.org/10.1080/10253890802234168>.