

論 文 内 容 要 旨

題目 Yb Integrates piRNA Intermediates and Processing Factors into Perinuclear Bodies to Enhance piRISC Assembly

(Yb は piRNA 前駆体と piRNA 生合成因子を核周辺部位に形成される顆粒体に局在させることによって piRISC 形成を促進する)

著者 Yukiko Murota, Hirotsugu Ishizu, Shinichi Nakagawa, Yuka W. Iwasaki, Shinsuke Shibata, Miharu K. Kamatani, Kuniaki Saito, Hideyuki Okano, Haruhiko Siomi, and Mikiko C. Siomi

平成 26 年 7 月 10 日発行 Cell reports 第 8 巻  
103 ページから 113 ページに発表済

内容要旨

生殖組織特異的に発現する小分子 RNA である piRNA は、PIWI タンパク質と piRISC を形成しトランスポゾンの発現を抑制する。この piRNA の機能によって生殖ゲノムは、トランスポゾンの転移による損傷から守られる。piRNA の中には、遺伝子間領域に位置する piRNA クラスターの転写産物である非コード RNA を前駆体として産生されるものが数多く含まれるが、これを一次 piRNA とよぶ。ショウジョウバエ卵巣由来体細胞株 OSC を用いたこれまでの解析から、一次 piRNA の生合成には Fs(1)Yb(Yb)や Armitage など複数のタンパク質因子が必須であること、また、piRNA は Yb を中核として形成される細胞質内顆粒体 Yb body において産生されることが明らかになった。一方、OSC で発現する一次 piRNA の多くは *flamenco*(*flam*)と呼ばれる piRNA クラスターを由来とするが、*flam* 転写産物、つまり *flam*-piRNA 前駆体の解析はこれまでなされていなかった。そこで、本研究においては、RNA-FISH によって *flam* 転写産物の可視化を試みた。その結果、*flam* 転写産物は Yb body に隣接する細胞質顆粒体に局在することを見出した。この顆粒体を Flam body と命名した。続いて、Flam body 形成の要求性を検討するために、一次 piRNA 生合成因子をノックダウンした条件下において、Flam body の可視化を行った。一次 piRNA の成熟化に必要なエンドヌクレアーゼ Zucchini(Zuc)をノックダウンした細胞では、Flam body、Yb body ともに拡大しお互いが重なり合う傾向が観察された。Northern 解析を行ったところ、500-1000bp 長の *flam* 転写産物が蓄積していた。これらの結果より、Flam body を形成する piRNA 前駆体は 500-1000bp 長程度の *flam* 転写産物であると考

## 様式(8)

えられた。Yb をノックダウンした細胞では、Yb body のみならず Flam body も形成されなくなった。この細胞で野生型 Yb を発現させると Yb body、Flam body 両顆粒体の形成は回復するが、RNA 結合能を欠失した Yb 変異体を発現させても両顆粒体は形成されず、一次 piRNA も産生されなかった。また、CLIP を行うことによって、Yb は *flam* 転写産物に直接結合する因子であることも判った。つまり、Yb は piRNA 前駆体に直接結合し、Flam body へと局在させると同時に、それが引き金となって piRNA 生合成因子を Yb body に局在させることによって piRNA 生合成を促進する因子であることが判明した。

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第1224号	氏名	室田 友紀子
審査委員	主査 片桐 豊雅 副査 佐々木 卓也 副査 親泊 政一		

題目 Yb Integrates piRNA Intermediates and Processing Factors into Perinuclear Bodies to Enhance piRISC Assembly

(YbはpiRNA前駆体とpiRNA生合成因子を核周辺部位に形成される顆粒体に局在させることによってpiRISC形成を促進する)

著者 Yukiko Murota, Hirotsugu Ishizu, Shinichi Nakagawa, Yuka W. Iwasaki, Shinsuke Shibata, Miharu K. Kamatani, Kuniaki Saito, Hideyuki Okano, Haruhiko Siomi, and Mikiko C. Siomi  
 平成26年7月10日発行 Cell Reports 第8巻  
 103ページから113ページに発表済  
 (主任教授 岡崎 拓)

要旨 生殖細胞特異的に発現するpiRNAはPiwiタンパク質とpiRISC複合体を形成し、トランスポゾンの発現を抑制することによってゲノムの品質管理を担う。ショウジョウバエ卵巣由来体細胞株(OSC)を用いたprimary piRNA生合成機構の解析から、fs(1)Yb(Yb)を中核とした細胞質顆粒体Yb bodyがprimary piRNA生合成の場であることが示された。また、OSCで発現するprimary piRNAの多くは*flamenco (flam)*と呼ばれるpiRNA clusterの転写産物を前駆体とし、primary piRNA生合成機構によって生成することも判っている。しかし、*flam*転写産物自身の解析は殆どなされていない。そこで申請者らは、RNA-FISHによってOSC内の*flam*転写産物の可視化を試みた。

その結果、*flam* 転写産物は Yb body に隣接する細胞質顆粒体に局在することを見出した。この顆粒体を Flam body と命名した。続いて、申請者らは、Flam body 形成の要求性を検討するために、primary piRNA 生合成因子をノックダウンした条件下において、Flam body の可視化を行った。primary piRNA の成熟化に必須なエンドヌクレアーゼ Zucchini をノックダウンした細胞では、Flam body、Yb body とともに拡大しお互いが重なり合う傾向が観察された。Yb をノックダウンした細胞では、Yb body のみならず Flam body も形成されなくなった。この細胞で野生型 Yb を発現させると Yb body、Flam body 両顆粒体の形成は回復するが、RNA 結合能を欠失した Yb 変異体を発現させても両顆粒体は形成されず、primary piRNA も産生されなかった。また、Cross-linking and immunoprecipitation を行うことによって、Yb は *flam* 転写産物に直接結合する因子であることも判った。つまり、Yb は piRNA 前駆体に直接結合し、Flam body へと局在させると同時に、それが引き金となって piRNA 生合成因子を Yb body に局在させることによって piRNA 生合成を促進する因子であることが判明した。

本研究は、生殖組織内での、トランスポゾンのサイレンシングを行なう piRNA 生合成の一端を明らかとしたもので、RNA サイレンシング領域、ひいては発生生物学の発展に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。