

要 旨

大腸菌からヒトに至る多くの生物の染色体には、転移性 DNA 因子であるトランスポゾンが多く存在する。トランスポゾンは染色体上を無秩序に動く性質を持つが、これは遺伝子に正の変異を誘発することで、例えば過酷な環境への順応性を高めるといった“利益”を生物にもたらすことが知られている。一方、遺伝子に負の変異を誘発する。生殖組織においてこのような負の変異が生じると、卵子や精子の形成を阻害し不稔性を導く、あるいは次世代に誤った遺伝情報を受継ぐといった危険性を伴う。これは我々生物にとって大きな脅威であるため、生物は、生殖組織においてトランスポゾンの利己的転移から染色体を守る仕組みを進化の過程で獲得した。この仕組みの中核因子は小さな RNA であり piRNA と名付けられた。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転写レベル、あるいは転写後レベルで阻害する。しかし、その作動機序の理解は乏しい。そこで我々は、ショウジョウバエをモデル生物として、piRNA によるトランスポゾンの制御の仕組みを分子レベルで統合的に理解することを目指し研究をすすめている。

piRNA をはじめとする“小さな RNA”は、長年、生体のごみと思われてきた。しかし、1998 年、siRNA による遺伝子制御機構 RNA 干渉 (RNAi) が発見され、また、この発見は microRNA の発見にも繋がり、これらの研究が次第に進むにつれ、小さな RNA の生体における必須性は明白となった。RNAi による遺伝子制御の効果や特異性は高く、また、操作が簡便であるため、RNAi は遺伝子解析ツールとして幅広く用いられるようになった。また、創薬につながる可能性を秘めており、これらのことを理由に、RNAi の発見者である Mello 博士と Fire 博士は、2006 年、ノーベル生理医学賞を受賞した。RNAi の分子作用機序に関する基礎研究も精力的に進められ、現在、その骨組みはほぼ理解されたといっても過言でない。一方、piRNA によるトランスポゾン抑制の作用機序は、非常に複雑で、また生殖細胞特異的であるため研究が遅々としているのが現状である。2009 年、我々の研究室は、継代可能なショウジョウバエ卵巢由来体細胞株 OSC の樹立に成功した [1]。この細胞株では、piRNA が未だに機能しており、その作用機序の解明を目指した生化学的解析に有用である。実際我々は、OSC を用いて piRNA の研究を進め、論文を発表してきた [2-5 & others]。OSC は元来、卵巢由来体細胞株であるため piRNA 増幅機構を持たず、よって本機構の分子作用機序の解析には不向きであるが、最近我々は、CRISPR/Cas9 システムによって転写抑制因子 *lethal (3) malignant brain tumor* を OSC でノックアウトすることにより piRNA 増幅機構を獲得した細胞株を

樹立することに成功した [6]。現在、この細胞株を用いて piRNA 増幅機構の仕組みを理解することを目指して研究を進めている。生殖組織では RNAi の威力は piRNA 機構のそれに比べ弱いことが知られている。よって生殖組織で特定の遺伝子を抑制する場合、siRNA より piRNA に依存した方がより高い効果が得られる。細胞レベルではあるものの、我々は人工 piRNA を発現させることにより任意の遺伝子を OSC で抑制することに成功している [7]。今後、これらの piRNA 研究の成果を応用すれば、生殖にまつわる疾患の治療等につなげることができると考えられ、将来への展開が期待される。

参考文献

1. Saito K, Inagaki S, Mituyama T, Kawamura Y, Ono Y, Sakota E, Kotani H, Asai K, Siomi H, Siomi MC. A regulatory circuit for *piwi* by the large *Maf* gene *traffic jam* in *Drosophila*. *Nature*. 2009; 461: 1296-1301.
2. Murota Y, Ishizu H, Nakagawa, S, Iwasaki YW, Shibata S, Kamatani, MK, Saito K, Okano H, Siomi H, Siomi MC. Yb integrates piRNA intermediates and processing factors into perinuclear bodies to enhance piRISC assembly. *Cell Rep*. 2014; 8: 103-113.
3. Ohtani H, Iwasaki YW, Shibuya A, Siomi H, Siomi MC, Saito K. DmGTSF1 is necessary for Piwi-piRISC-mediated transcriptional transposon silencing in the *Drosophila* ovary. *Genes Dev*. 2013; 27: 1656-1661.
4. Nishimasu H, Ishizu H, Saito K, Fukuhara S, Kamatani MK, Bonnefond L, Matsumoto N, Nishizawa T, Nakanaga K, Aoki J, Ishitani R, Siomi H, Siomi MC, Nureki O. Structure and function of Zucchini endoribonuclease in piRNA biogenesis. *Nature*. 2012; 491: 284-287.
5. Saito K, Ishizu H, Komai M, Kotani H, Kawamura Y, Nishida KM, Siomi H, Siomi MC. Roles for the Yb body components Armitage and Yb in primary piRNA biogenesis in *Drosophila*. *Genes Dev*. 2010; 24: 2493-2498.
6. Sumiyoshi T, Sato K, Yamamoto H, Iwasaki YW, Siomi H, Siomi MC. Loss of *l(3)mbt* leads to acquisition of the ping-pong cycle in *Drosophila* ovarian somatic cells. *Genes Dev*. 2016; 30: 1617-1622.
7. Ishizu H, Iwasaki YW, Hirakata S, Ozaki H, Iwasaki W, Siomi H, Siomi MC. Somatic primary piRNA biogenesis driven by cis-acting RNA elements and trans-acting Yb. *Cell Rep*. 2015; 12: 429-440.