

piRNA 産生における反応場の「ソーシャルディスタンス」
～自己遺伝子と非自己遺伝子の識別には反応場の適切な区画化が重要～

1. 発表者：

鍾 沛原（東京大学大学院新領域創成科学研究科 博士課程 3 年）
庄司 佳祐（東京大学定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 助教）
泉 奈津子（東京大学定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 技術専門職員）
泊 幸秀（東京大学定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆カイコにおける新規の piRNA 反応場を同定し、piRNA 経路が複数の反応場に区画化されていること（反応場の「ソーシャルディスタンス」）を見出しました。
- ◆piRNA 経路の適切な区画化は、非自己であるトランスポゾンだけに対応する正確な piRNA の産生に重要であることを明らかにしました。
- ◆謎が多く残されている細胞内構造体の制御メカニズムと役割に新たな知見を与えました。

3. 発表概要：

piRNA (PIWI-interacting RNA) は、人間を含めた動物の生殖細胞に存在するわずか 30 塩基程度の小さな RNA (注 1) ですが、次世代に伝わる生殖細胞のゲノムを「トランスポゾン (転移因子)」の脅威から守る役割を持ち、種の存続には不可欠なものです。近年では、ガン細胞や神経細胞などにおいても、piRNA が重要な役割を果たしていることが報告されています。piRNA をつくるために必要な因子の多くは、細胞質の中でも特に核のまわりで見られる nuage (ニュアーージュ) と呼ばれる膜を持たない細胞内構造体に局在しているため、この構造体は piRNA が作られる場、すなわち「piRNA 反応場」であると考えられていました。しかし、この構造体の中で何が起きていて、piRNA 産生にどう必要であるかといった反応場形成の生物学的意義は不明なままでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の鍾 沛原大学院生、庄司 佳祐助教、泉 奈津子技術専門職員、泊 幸秀教授の研究チームは、カイコ生殖細胞における piRNA 反応場「piP-body」を新たに同定し、piRNA を作る因子が nuage と piP-body に分かれて局在していることを見いだしました。また、piP-body と nuage を行き来する piRNA 因子の動きを阻害することで、これらの piRNA 反応場間の行き来が、正確な piRNA の産生に必須であることを突き止めました。本研究成果は、nuage をはじめ、未だ謎が多く残されている細胞内構造体の生物学的意義を明らかにし、piRNA の品質管理機構の理解を大きく前進させるものです。

4. 発表内容：

私たち真核生物の核内にはゲノム DNA が格納されており、生命の設計図としての重要な役割を果たしています。しかし驚くべきことに、この設計図には「トランスポゾン (転移因子)」と呼ばれる「スパイ」が潜伏しています。トランスポゾンは名前の通り、活性化されるとゲノム上の新しい位置に転移する能力を持つ遺伝子配列であり、この転移によって生存に必須な遺伝情報が破壊されると、細胞死を起こす可能性があります。特に、生殖細胞におきた変異は、次の世代に引き継がれる恐れがあるため、生殖細胞では piRNA (PIWI-interacting RNA) と呼ばれる小さな RNA がトランスポゾンの抑制に機能しています。この小さな RNA は、PIWI と呼ばれる RNA 切断活性を持つタンパク質と結合し、自身と相補的な配列をもつ

トランスポゾン RNA へと PIWI タンパク質を誘導します。PIWI タンパク質は piRNA の配列をもとに標的を認識し、その RNA を切断します。切断されたトランスポゾン RNA は機能しなくなるだけでなく、新たな piRNA の原材料として生まれ変わり、トランスポゾンの抑制機能を増強します。piRNA を産生できない個体では、トランスポゾンの活性化によるゲノムの不安定化が誘発され、最終的には正常な卵や精子が形成できなくなり、不妊になってしまいます。

piRNA の産生には、非常に多数のタンパク質因子 (piRNA 因子) が必要です。piRNA 因子の多くは、核膜のまわりにみられる nuage と呼ばれる細胞内構造体に局在するため、この構造体は piRNA が作られる場、すなわち「piRNA 反応場」として機能していると考えられています。nuage は RNA 顆粒 (注2) の一種であり、膜をもたない液体状の会合体 (水に油が浮かんでいる様な状態) です。このような RNA 顆粒は、一般にとっても小さく (直径 200 nm 程度で細胞サイズの約 100 分の 1)、ダイナミックに変化する性質を持つため、単離が困難であり、構成される因子の全容すらも判明していません。したがって、piRNA 反応場の制御メカニズムや生物学的意義は、未だに大きな謎に包まれています。

piRNA 産生経路の解明に向けたアプローチとしては、定常状態の細胞を観察したり、細胞を破碎して因子同士の相互作用を調べたりする手法がよく使われています。しかし、このような手法だけでは、動的にはたらいっている piRNA 因子群の動きをとらえることは困難です。特に、piRNA 反応場がもし複数存在するのであれば、その間をなんらかの因子が動的に行き来しており、その行き来こそが重要な役割を果たしていると考えられます。そこで、私たちはカイコの PIWI タンパク質の 1 つである Siwi をはじめ、代表的な piRNA 因子の触媒活性をなくした変異体を細胞に導入することで、piRNA 因子群の動きを「フリーズ」させ、高解像度な顕微鏡を用いてその細胞内での局在や動態の変化を詳しく観察しました。

その結果、新たな piRNA 反応場として、piP-body という細胞内構造体の存在が見えてきました。piP-body には、RNA 顆粒の一種で RNA 分解経路に関わることが知られていた P-body (注3) を構成する因子群と、いくつかの重要な piRNA 因子群が共局在しているということが分かりました。また、Siwi は、普段の定常状態では nuage に局在していますが、標的切断ができなくなった変異体では piP-body に誤って局在し、他の様々な piRNA 因子をその場にトラップしてしまうことも判明しました。これらの結果から、Siwi をはじめとするカイコの piRNA 因子群は、piRNA 産生の過程で、nuage と piP-body という異なる piRNA 反応場の間を行き来していることが明らかになりました (図1)。

さらに、Siwi の切断活性変異体によって piRNA 因子群の細胞内動態を「フリーズ」させ、適切な細胞内区画化が阻害された際に、piRNA 産生にどのような影響が生じるのかを、次世代シーケンサーを用いた生物情報学的な解析によって網羅的に調べました。するとこのような細胞では、トランスポゾンではなく、生存に必須な自己の mRNA 由来の piRNA が顕著に増加していることが分かりました。すなわち、piRNA 経路の細胞内区画化がおかしくなると、piRNA 産生の品質管理機構が自己の遺伝子を「スパイ」だと勘違いして、そこから piRNA を作り始めてしまったのです。これらの結果は、piRNA 因子群の nuage と piP-body への適切な区画化、すなわち piRNA 反応場の「ソーシャルディスタンス」が、非自己であるトランスポゾンだけに対応する正確な piRNA の産生に重要であることを示しています。

本研究はカイコ培養細胞を用いて行われましたが、哺乳類のマウスの生殖細胞においても、似たような piRNA 因子群の区画化が見られていることから、区画化による piRNA 品質管理は多くの動物種に保存されていることが予想されます。また、nuage や piP-body の様な膜を持たない RNA 顆粒の形成は、近年の一大トピックとなっている「液-液相分離」現象 (注

4) の一例であると考えられています。このことから、本研究成果は piRNA 研究に留まらず、細胞内のさまざまな非膜構造体の生物学的意義の解明にも貢献することが期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*EMBO Reports*

論文タイトル：Dynamic subcellular compartmentalization ensures the fidelity of piRNA biogenesis in silkworms

著者：Pui Yuen Chung, Keisuke Shoji, Natsuko Izumi, Yukihide Tomari*（責任著者）

DOI 番号：10.15252/embr.202051342

アブストラクト URL：<https://www.embopress.org/doi/10.15252/embr.202051342>

6. 注意事項：

日本時間 5 月 11 日（火）午後 7 時（中央ヨーロッパ時間（夏時間）：11 日（火）正午）以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先：

東京大学定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野

教授 泊 幸秀（とまり ゆきひで）

電話: 03-5841-7839

E-mail: tomari@iqb.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説：

（注 1）RNA：リボ核酸。最も一般的に知られているメッセンジャー RNA は、遺伝子（DNA、デオキシリボ核酸）から転写された、タンパク質をコードする RNA である。タンパク質をコードしない「小さな RNA」は、遺伝子の発現制御など、様々な生命現象において重要な役割を担っている。

（注 2）RNA 顆粒：特定のタンパク質、RNA 等が濃縮している膜をもたない細胞小器官の総称。詳細な機能は未だに明らかにされていないものの、近年では液-液相分離がその形成に関与していることが示されている。

（注 3）P-body：細胞質 RNA 顆粒の一種。Nuage とは異なり、体細胞にも存在しており、メッセンジャー RNA の分解や貯蔵に関与するとされている。

（注 4）液-液相分離：2つの液体が一相状態から二相に分離すること。油と水を混ぜてもすぐ水層と油層に分離してしまう、という現象が最も一般的である。生体内の液-液相分離現象は、ストレス応答、遺伝子の活性化、神経変性疾患など、さまざまな生命現象に関わっていると考えられている。

9. 添付資料 :

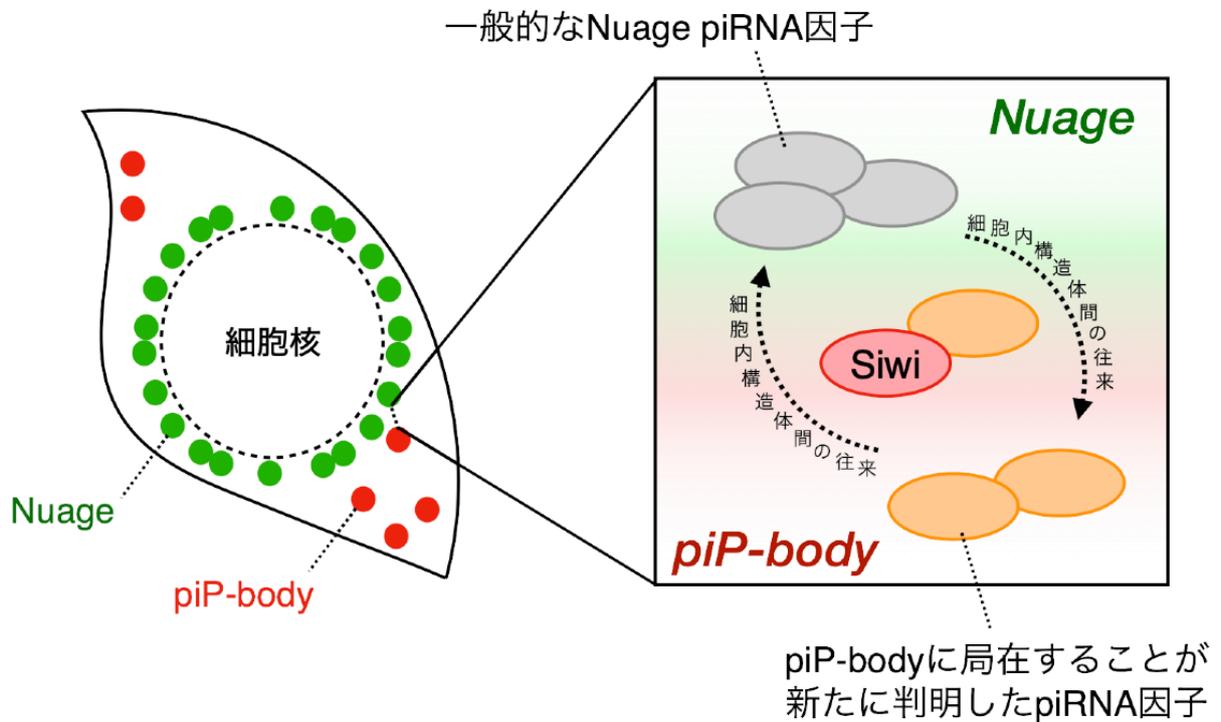


図1 : カイコ細胞における piRNA 経路の細胞内区画化

Siwiをはじめとする piRNA 因子群は、nuage (緑) という細胞内構造体に局在するだけでなく、piP-body (赤) という細胞内構造体にも一部局在し、ダイナミックに行き来しているが明らかとなった。さらに、この piRNA 経路の細胞内区画化は、非自己であるトランスポゾンだけに対応する正確な piRNA の産生に重要であることが示された。