

主 論 文 要 旨

報 告 番 号	① 乙 第	号	氏 名	有 浦 勝
主 論 文 題 名 <i>Drosophila</i> Piwi distinguishes transposons from mRNAs by piRNA complementarity and abundance (ショウジョウバエのPiwiはmRNAとトランスポゾンとをpiRNAが完全にマッチすることと発現量によって区別する)				
(内 容 の 要 旨) Piwi-interacting RNAs (piRNA) は、動物の生殖細胞において転移因子 (transposable element : TE) の主要な抑制因子である。ショウジョウバエにおいて、Piwi-piRNA複合体はTEの転写産物である新規RNAに対して結合し、ヘテロクロマチン化を引き起こすことでTEを抑制する。しかし、先行研究において、Piwiは大量のmRNAと結合することが示唆されているため、PiwiがどのようにmRNAとTEとを区別しているか明らかではない。この疑問を解決するため、我々はPiwi-piRNAについて結合と機能に関する観点から包括的な解析を行い、Piwi-piRNA複合体の標的との結合法則について明らかにすることを目指した。 まず、CLASH解析を行うことによって、細胞内でpiRNAと標的RNAとがどういったペアで結合しており、どの塩基が結合状態となっているかを明らかにした。その結果、mRNAやTEに結合するペアではpiRNAの5'末端の2番目から8番目の塩基 (seed配列) はほとんどすべてのペアにおいて結合していることがわかった。一方で、抑制の対象になっているTEでは、RNA同士の結合がミスマッチなく行われているペアが多かった。これより、Piwiはまずseed配列から標的に結合することがわかったが、標的を抑制するためには、さらに8番目の塩基以降の配列との結合も必要であり、実際にはほとんど完全にマッチした配列で結合することが必要であるとわかった。 しかし、piRNAと標的のRNAが完全マッチしたペアでも発現の抑制が行われていないものがあつた。そこで、Luciferaseアッセイを行うことによって、piRNAの発現量が非常に重要であることがわかった。実際、TEの抑制はpiRNAの発現量が多いもののみ行われており、発現抑制されていないTEではpiRNAの発現量が少なかった。また、完全マッチするpiRNAの発現量の尺度で見ると、容易に発現抑制されているTEとmRNAとを区別することが可能だった。以上より、標的RNAの発現量の抑制を行うには、piRNAが標的RNAに対して完全にマッチすることに加えて、piRNAの発現量が一定の基準以上に発現することが必要であることがわかった。 まとめると、これらの発見は、Piwi-piRNAの発現量抑制の大部分を説明し、PiwiがmRNAとTEのどちらとも結合しながら、どのようにして両者を効果的に区別するかを明らかにした。				