



研究課題名 反応場に着目した piRNA 経路の生化学的解析

東京大学・定量生命科学研究所・教授

とまり ゆきひで
泊 幸秀

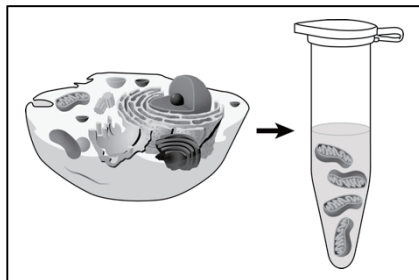
研究課題番号：18H05271 研究者番号：90447368

キーワード：piRNA、小分子RNA、反応場、RNAサイレンシング、PIWI、Argonaute

【研究の背景・目的】

RNA 干渉の発見以来、小分子 RNA が働く分子メカニズムの理解は飛躍的に進んできた。しかし、小分子 RNA の中でも、次世代にゲノム情報を伝える生殖細胞をトランスポゾンから守るといった重要な役割を果たす piRNA 経路の理解は大幅に遅れている。その最大の理由は、piRNA の生合成と機能が、細胞内の様々な「反応場」を必要とするため、高速遠心分離によって可溶性画分を調製する一般的な細胞抽出液や、精製したリコンビナントタンパク質を用いた実験では、本来の活性が容易に失われてしまうからである。

そこで本研究では、我々が独自に開発してきた、ミトコンドリア画分を丸ごと用いた試験管内系をさらに発展させ、piRNA が機能する「反応場」を正しい活性のある状態で試験管内に取り出し、piRNA が作られ標的を抑制するまさにその「現場」を生化学的にとらえることによって、未解明のまま残されている「piRNA はどの様に作られ、どの様に働くのか?」という基本的かつ本質的な問いを、分子レベルで正確に追求する。



「反応場」に着目した試験管内系の構築

【研究の方法】

本研究では、未だ解明されていない

1. piRNA 中間体はどの様にして PIWI タンパク質に取り込まれるのか?
2. piRNA 中間体はどの様に成熟化するのか?
3. piRNA に切断された標的 RNA はどの様に次の PIWI タンパク質に受け渡されるのか?

という3つの点に着目し、必要な細胞内の「反応場」をできるだけ壊さない形で丸ごと試験管内に取り出し、反応を忠実に再現することによって、その素過程を生化学的にとらえて詳細に解析する。その際、種々のゲノム編集技術や、次世代シーケンサーによる情報学的解析なども柔軟に組み合わせる。これに

より、piRNA 生合成の分子メカニズムに関する革新的な理解の進展を目指す。

【期待される成果と意義】

RNA が PIWI タンパク質に取り込まれる原理や、piRNA 生合成過程におけるエンドヌクレアーゼ・エクソヌクレアーゼの関係性や必要性、さらには piRNA が標的 RNA を切断しながら増幅する「ピンポンサイクル」の実態などについては、漠然としたモデルの中で分子レベルでの正確な理解が欠如していると言える。このような世界的な研究動向において、本研究は、細胞内の「反応場」に依存するという piRNA 経路の特性を十分に考慮し、これまで積み上げてきた独自の知見やアプローチを活用しながら、piRNA 研究分野が抱える課題を正面から突破しようとするものである。

また、「反応場」に着目した生化学解析系構築のノウハウは、piRNA 経路に限らず、他のノンコーディング RNA や、細胞内の反応場を利用する様々な生物学的経路に適用できる可能性が高く、大きな波及効果が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Structural basis for arginine methylation-independent recognition of PIWI1 by TDRD2. Zhang H, Liu K, Izumi N, Huang H, Ding D, Ni Z, Sidhu SS, Chen C, *Tomari Y, *Min J. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017 Nov 21;114(47):12483-12488.

Identification and functional analysis of the pre-piRNA 3' Trimmer in silkworms. Izumi N, Shoji K, Sakaguchi Y, Honda S, Kirino Y, Suzuki T, Katsuma S, *Tomari Y. *Cell*. 2016 Feb 25;164(5):962-73.

3'-end formation of PIWI-interacting RNAs in vitro. Kawaoka S, Izumi N, *Katsuma S, *Tomari Y. *Mol Cell*. 2011 Sep 16;43(6):1015-22.

【研究期間と研究経費】

平成 30 年度－34 年度
148,900 千円

【ホームページ等】

<http://www.iam.u-tokyo.ac.jp/tomari/>
tomari@iam.u-tokyo.ac.jp