助成番号　210734	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	生殖顆粒の不均質性の piRNA 生合成における役割の解明		
研究テーマ（英文）	The role of germ granule heterogeneity in piRNA biogenesis		
研究期間	2021　年 ～ 2023　年	研究機関名　東京大学	
研究代表者	氏名（漢字）	山崎 啓也	
	氏名（カタカナ）	ヤマザキ ヒロヤ	
	氏名（英文）	Hiroya Yamazaki	
	所属機関・職名	東京大学大学院理学系研究科・助教	
共同研究者 ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名（漢字）		
	氏名（カタカナ）		
	氏名（英文）		
	所属機関・職名		
	氏名（漢字）		
	氏名（カタカナ）		
	氏名（英文）		
	所属機関・職名		

概要 （600 字～800 字程度にまとめてください。）

生殖組織特異的小分子 RNA である piRNA は、PIWI タンパク質と複合体を形成し、トランスポゾンを抑制することで生殖細胞のゲノムを保護する。核膜近傍の細胞質側に局在する膜を持たないオルガネラである生殖顆粒には、piRNA 生合成に関わるタンパク質が局在し、その正常な形成は piRNA の生合成に重要である。しかしながら、生殖顆粒は構成タンパク質が異なる不均質な集団として存在しており複雑であるため、その形成機構や機能機構には不明な点が多い。本研究では、生殖細胞特異的 RNA ヘリカーゼ Vasa が局在する生殖顆粒に着目し、生殖顆粒を保持するカイコ卵巣由来生殖細胞株 BmN4、試験管内相分離アッセイ、および FAST-iCLIP 解析を用いて、それらの機構を明らかにしようと試みた。

その結果、Vasa の N 末端の天然変性領域（N-IDR）と RNA ヘリカーゼドメインが、それぞれ自己会合と RNA 結合に関与し、液液相分離を介した生殖顆粒形成に必須であることを明らかにした。また、N-IDR は RNA 結合活性にも必要であることが判明した。試験管内相分離アッセイにおいても両ドメインが Vasa の液液相分離に重要であることが支持され、さらに Vasa の液液相分離は比較的長い RNA によって促進されることも明らかになった。加えて、FAST-iCLIP 解析により、Vasa はトランスポゾン mRNA に有意に結合することが示された。

本研究の結果は、Vasa が自己会合能とトランスポゾン mRNA への結合能により、液液相分離を介して生殖顆粒を形成することを示唆している。Vasa のこの特性により、トランスポゾン mRNA が生殖顆粒に濃縮され、トランスポゾン抑制と piRNA 生合成が効率的に行われると考えられる。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）

雑誌	論文課題	*Bombyx* Vasa sequesters transposon mRNAs in nuage via phase separation requiring RNA binding and self-association				
	著者名	Hiroya Yamazaki, Yurika Namba, Shogo Kuriyama, Kazumichi M. Nishida, Asako Kajiya, Mikiko C. Siomi	雑誌名	nature communications		
	ページ	1942	発行年	2 0 2 3	巻号	14
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ﾍﾟｰｼﾞ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

The germline-specific piRNA forms a complex with PIWI proteins, suppressing transposons and protecting the germ cell genome. Germ granules, non-membranous organelles containing piRNA biogenesis proteins, are crucial for piRNA production. However, their heterogeneity of germ granules raises several questions regarding their formation and function. I investigated germ granules containing the RNA helicase Vasa using the silkworm germ cell line BmN4, *in vitro* assays, and FAST-iCLIP analysis.

I found that the N-terminal intrinsically disordered region (N-IDR) and RNA helicase domain of Vasa are essential for germ granule formation via liquid-liquid phase separation. These domains are involved in self-association and RNA binding, respectively. Furthermore, I discovered that the phase separation of Vasa was promoted by long RNAs. FAST-iCLIP revealed the significant binding of Vasa to transposon mRNAs.

The findings suggest that Vasa forms germ granules through phase separation, utilizing its self-association ability and transposon mRNA binding capacity. This allows transposon mRNAs to concentrate in germ granules, enabling efficient transposon suppression and piRNA biogenesis.