

[招待論文：総説・レビュー論文]

非コード領域のゲノム科学

Functions of the Non-Coding Genomic Regions

岩崎 由香

慶應義塾大学医学部分子生物学教室准教授

Yuka W. Iwasaki

Associate Professor, Department of Molecular Biology, Keio University School of Medicine

Correspondence to: iwasaki@keio.jp

Abstract: 近年のトランスクリプトーム研究のもたらした最も重要な成果の一つに、多様な生物種における膨大な数の非コード RNA の存在が明らかになったことが挙げられる。そうした非コード RNA のうち 20-30 塩基程度の小分子 RNA は、細胞質での標的 RNA の分解や核内でのエピジェネティックな制御まで、非常に多岐にわたり、いずれも正常な発生や生体機能に必要不可欠なものである。本稿では、小分子非コード RNA による遺伝子発現制御に焦点をあてながら、ゲノムの大部分を占める非コード領域の機能について議論する。

Small non-coding RNAs (miRNAs, siRNAs, and piRNAs) play critical roles in development, gene expression, and genome stability through their ability to perform RNA silencing. Small RNAs form effector complexes with Argonaute proteins and guide them to target genes to repress their functionality. Among the small RNAs, piRNAs function in gonads to regulate transposons. Transposons are universal components of eukaryotic genomes, and the mobility of these elements causes DNA double-strand breaks and insertional mutagenesis. Focusing on RNA silencing, possible functions of the non-coding genomic regions are discussed.

Keywords: 非コードゲノム領域、非コード RNA、小分子 RNA、トランスポゾン
non-coding genomic regions, non-coding RNA, small RNA, transposon

1 はじめに

様々な生物の受精卵を比べてみると、これらに見た目上大きな違いはない。にもかかわらず、複雑な発生過程を経て全く異なる生き物が形作られていく。これは、生物の設計図である「ゲノム」に記載されている情報の違いによるものである。さらに興味深いことに、タンパク質をコードする遺伝子の数は、幅広い生物種間で大差ないことも知られている (Gregory, 2005)。生物種間で

大きく違うことが知られているのが、「非コード領域」と呼ばれるタンパク質をコードしないゲノム領域である。これら非コード領域の重要性については、近年多くの知見が明らかになっている。例えば、DNA 配列自身がエレメントとして働くことでタンパク質コード遺伝子の発現パターンを制御する例や、DNA からタンパク質になる前に産生される RNA を最終産物として機能する例が挙げられる (Mattick, 2004)。さらには、ヒトゲノムの約半分はトランスポゾンと呼ばれる自分自身のコピー数を増やすという特徴をもった遺伝子やその残骸によって占められている (Bourque et al., 2018)。

ヒトゲノムの約半分については RNA として転写される一方で、これらのうちタンパク質をコードする領域はわずか数パーセント程度であることが知られている (Gregory, 2005; Mattick, 2004)。タンパク質に翻訳されない RNA の割合が非常に大きい、その一部は RNA として重要な機能をもつことが知られている (図 1)。これら非コード領域から転写される機能的な RNA を、非コード RNA (ノンコーディング RNA、機能的 RNA) と呼ぶ (Morris and Mattick, 2014)。様々な種類の非コード RNA が、異なる作用機序で生物にとって必須な機能を果たすことが知られている。長さを指標に非コード RNA を分類してみると、エピジェネティック制御等を行う長鎖非コード RNA は、10

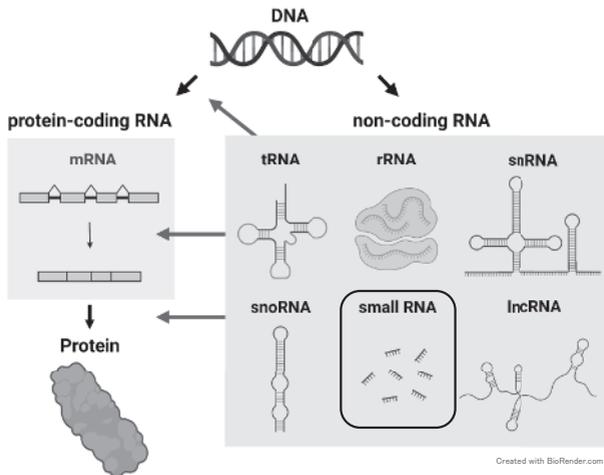


図 1 タンパク質コード RNA と非コード RNA

万塩基程度のものもあることが知られている。また、tRNA や rRNA といった数百から数千塩基の非コード RNA が、RNA を鋳型にタンパク質を合成する翻訳機構で必須な役割を担う。非コード RNA のなかでも最も短いものが小分子 RNA と分類されるもので、わずか 20-30 塩基程度である。

小分子 RNA を介した「RNA サイレンシング」と呼ばれる遺伝情報の発現制御機構が、植物からヒトまで広範な生物種において、発生・分化・疾患・環境応答等のさまざまな生命現象の根幹的な調節機構として機能している (Siomi and Siomi, 2009)。RNA サイレンシングにおいて中核的な役割を担う分子はアルゴノート (AGO) ファミリータンパク質であり、小分子 RNA との直接的な相互作用により機能する (図 2)。AGO ファミリータンパク質は、小分子 RNA と相補的な配列をもつ標的遺伝子へとガイドされ、転写産物の分解や翻訳抑制などを介して標的となる遺伝子の発現を制御する (Ghildiyal and Zamore, 2009)。AGO ファミリーは AGO と PIWI の 2 つのサブファミリーから構成され、AGO サブファミリータンパク質はほぼ全組織で恒常的に発現し、small interfering RNA (siRNA) や microRNA (miRNA) といった短鎖 RNA と

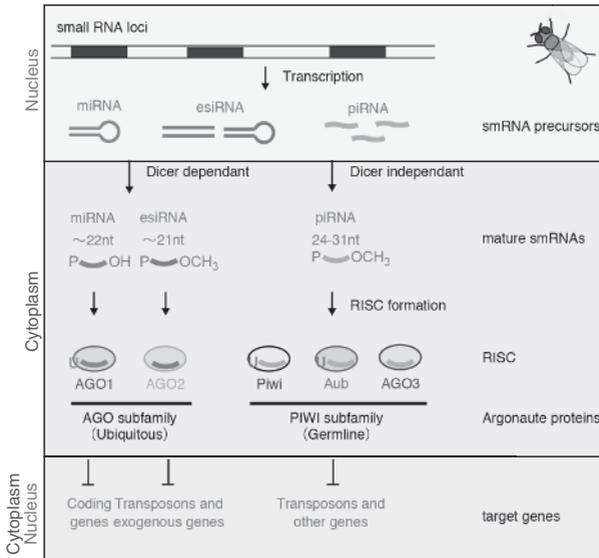


図 2 ショウジョウバエで働く小分子 RNA

相互作用する一方、PIWI サブファミリータンパク質（一例として、ショウジョウバエでは Piwi, Aubergine (Aub), AGO3 が同定されている）は生殖細胞特異的に発現し、PIWI-interacting RNA (piRNA) と呼ばれる小分子 RNA と相互作用する (Iwasaki et al., 2015)。さらに piRNA の興味深い特徴として、非コードゲノム領域の大きな割合を占めるトランスポゾンの発現を抑制することが知られている。

小分子 RNA は、比較的新しく発見された非コード RNA であることから、これらが生体内でどのように産生され、AGO ファミリータンパク質と相互作用するのか、その生成に関する分子機構は、近年飛躍的に解析が進められた。本稿では、小分子 RNA を中心とした非コード領域が正常な生命システムの維持にどのように寄与するか、筆者がこれまでに明らかにした作用機序を中心に議論したい。

2 小分子 RNA による遺伝子発現制御ネットワークの情報学的予測

小分子 RNA はその短い塩基配列情報を元に標的遺伝子を抑制するため、一種類の小分子 RNA は多くの標的遺伝子をもち、さらに標的遺伝子も多数の小分子 RNA による制御を受ける (Ghildiyal and Zamore, 2009)。このように複雑な制御関係から、小分子 RNA の機能的役割の全体像を明らかにする上で、情報学的なアプローチが非常に重要な役割を担った (Watanabe et al., 2007b)。筆者は SFC の先端生命科学 (BI) プログラムにて、情報学的アプローチを用いた miRNA の機能予測というテーマで研究をスタートした。

生体内に数千配列種存在する小分子 RNA である miRNA について、それらが標的とする遺伝子をインフォマティックに予測し、どのような生命現象を制御するかを多角的に示した。まず、線虫の miRNA の標的候補遺伝子をゲノムワイドに同定し、とくに発生関連の遺伝子等を抑制することを示した (Watanabe et al., 2006)。さらに、宿主と感染するウイルスとの関係に着目し、ヒトをはじめとした宿主は自身に感染するウイルスに相補的な miRNA をコードしていることを示した (Watanabe et al., 2007a)。また、miRNA と標的遺伝子の生物種間の保存性について解析した結果、保存性の高い miRNA につい

てはゲノム中の複数箇所にコードされる割合や発現量が高い傾向にある一方で、標的候補遺伝子の数は減少する傾向があった (Watanabe et al., 2008)。このことから、miRNA は進化的に標的特異性を増すと同時に発現量を増やす傾向にあることが考えられた。

バイオインフォマティクス解析に加えて、マルチオミクス解析や実験的手法を組み合わせたアプローチにより、細胞周期再侵入時における miRNA の機能を明らかにした (Iwasaki et al., 2013)。miRNA 前駆体の核外輸送タンパク質である Exportin5 の発現が、細胞周期再侵入時に大きく上昇することを見出した。さらにこれが成熟型 miRNA 量の増加につながり、細胞周期関連遺伝子の発現を制御していることを明らかにした。また、サンプルの希索性等から解析が行われていなかった、コモンマーモセット精巣における小分子 RNA の次世代シーケンス解析により、新規小分子 RNA を同定すると同時に小分子 RNA の網羅的な発現プロファイルを得た (Hirano et al., 2014)。得られた情報をもとに小分子 RNA 産生ゲノム領域の特徴を解析し、霊長類 piRNA の生成モデルを提唱した。これらの情報はリソースとして公開されており、哺乳類間の小分子 RNA 制御を比較した進化的な研究等にも発展している (Parrish et al., 2015)。

3 小分子 RNA が合成され機能複合体が形成される仕組みの解明

SFC で学位を取得した後、小分子 RNA による遺伝子発現制御機構の研究をさらに深めるために、慶應義塾大学医学部分子生物学教室にて研究を進めた。ここでは、生殖組織特異的に発現する PIWI サブファミリータンパク質と複合体を形成し、個体発生や生命の次世代継承にとって重大な脅威となるトランスポゾンの転写抑制を行う piRNA に着目し、その生合成系を解析した (Namba et al., 2022; Nishida et al., 2015; Nishida et al., 2018; Sato et al., 2015; Yamada et al., 2022)。一例として、細胞質で効率的にトランスポゾン抑制能がある piRNA を産生する仕組みを明らかにした (Sato et al., 2015)。piRNA を介したトランスポゾンの抑制には、トランスポゾンの mRNA に対して相補的な「アンチセンス piRNA」が効率的に産生されることが鍵となる。

Krimper と呼ばれるタンパク質がこのアンチセンス piRNA の産生に重要な役割を果たすことを明らかにした。具体的には、Krimper は特定の PIWI タンパク質と相互作用することで、その PIWI タンパク質に結合する piRNA 集団中にストランドバイアス (センス・アンチセンスのどちらか一方の鎖に由来する piRNA への偏り) を生み出す。これにより、効率的なアンチセンス piRNA の産生を可能にしているという新たなモデルを提唱した。

その他にも、piRNA が成熟化される前の前駆体の局在や成熟化 piRNA へのプロセッシングを段階的に示した (Murota et al., 2014)。ここで得られた知見から、ショウジョウバエ卵巣由来の培養細胞 (Ovarian Somatic Cell; OSC) を用いて人工的に任意の piRNA を産生する独自のシステムを確立した (Ishizu et al., 2015)。piRNA の生合成を再構築することで、長い RNA 前駆体から成熟型 piRNA がどのように合成されるかを明らかにすることができた。人工 piRNA システムの強みは、任意のゲノム領域を piRNA の標的とすることができること、並びに細胞内で元々存在しない piRNA も発現させることができることである。現在、この利点を生かし、人工的な piRNA を産生するシステムを用いて、piRNA がどのような法則性をもって標的遺伝子を認識しているかを解析している。

これまでに生化学実験を取り入れた解析を行うために、試料が豊富に得られるショウジョウバエをはじめとした昆虫の培養細胞を用いた研究を中心に取り組んできた。その一方で、PIWI-piRNA によるトランスポゾンの抑制はヒトを含む哺乳類にも保存されている (Iwasaki et al., 2015)。表現型についても、ハムスターを新たなモデル生物として用いた解析から、PIWI-piRNA によるトランスポゾン抑制機構の破綻が、雌雄の不稔を引き起こすことが確認された (Hasuwa et al., 2021; Ishino et al., 2021)。今後は哺乳類の PIWI-piRNA によるトランスポゾン制御機構やそれが不稔の原因となるメカニズムの解明にも取り組んでいきたい。

4 小分子 RNA を介したヘテロクロマチン形成メカニズムの理解

piRNA の一部は、他の多くの小分子 RNA とは異なり、核に局在して転写

レベルで遺伝子発現を抑制することが知られている (Iwasaki et al., 2015)。しかしながら、その機能メカニズムには不明な点が多い。核内の piRNA がどのようなタンパク質と複合体を形成するかを生化学的に解析し、その知見を元にエピゲノム解析を行うことで、piRNA による転写制御がリンカーヒストン H1 等を介したクロマチンの凝集の促進によることを明らかにした (Iwasaki et al., 2016)。これに加え、卵巣特異的に発現する RNA 核外輸送タンパク質ファミリー因子 Nxf2 が、実はそのドメイン構造から予想される機能である核外輸送ではなく、piRNA によるトランスポゾンの転写抑制に寄与することを見出した (Murano et al., 2019)。これにより、Nxf2 や Piwi を含む、PPNp (Piwi-Panx-Nxf2-p15) と名付けた複合体が、Piwi-piRNA によるヘテロクロマチン形成に必須な因子をリクルートする中核的役割を果たすことを明らかにした (図 3)。

PPNp (Piwi-Panx-Nxf2-p15) complex

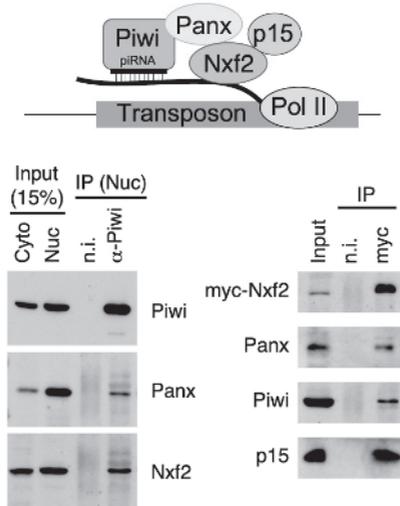


図 3 PPNp 複合体の同定

Piwi-Panx-Nxf2-p15 (PPNp) の 4 種類のタンパク質から成る複合体 (上図) をショウジョウバエの培養細胞を用いた免疫沈降実験 (IP) を用いて同定した。泳動写真の上部に IP に用いた抗体を、左右にウェスタンブロットに用いた抗体を示す。n.i.: non-immune (ネガティブコントロール抗体); Cyto: cytoplasmic fraction; Nuc: nuclear fraction

小分子 RNA による制御が引き起こすヘテロクロマチン形成がゲノム構造を含む核内の空間的制御にどのようなインパクトを及ぼすか明らかにすべく、DNA-FISH による顕微鏡観察に加え、クロマチン三次元構造を網羅的に同定する Hi-C 法や核ラミナとクロマチンとの相互作用を同定する Lamin-DamID 法等のオミクス解析を進めた (Iwasaki et al., 2021)。その結果、piRNA 標的領域は piRNA の制御に伴い核膜付近に局在すること、および piRNA 制御に伴い piRNA 標的領域のゲノム領域間の相互作用が増加した状態になることを明らかにした (図 4)。これらの結果は、piRNA が標的トランスポゾンを中心としたゲノム領域のヒストン修飾のみならず、ゲノム三次元構造や核内クロマチン局在を含むダイナミックな核内構造の制御を行うことを示唆する。

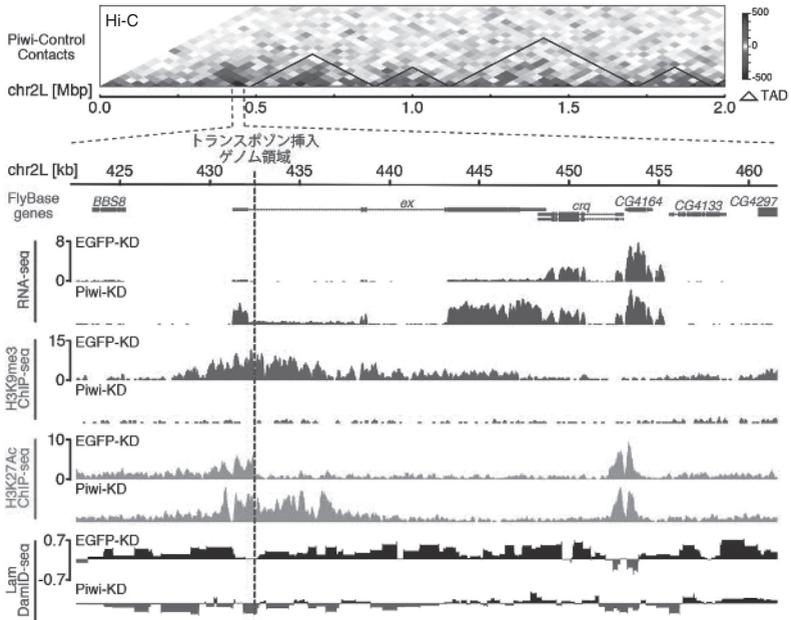


図 4 トランスポゾン挿入ゲノム領域において piRNA が引き起こすエピゲノム変化
Piwi-piRNA の標的トランスポゾン挿入ゲノム領域 (破線) におけるエピゲノム変化を示す。上から HiC を用いたゲノム三次元構造解析、ChIP-seq を用いたヒストン修飾解析、Lamin の DamID-seq を用いた核膜相互作用解析を示す。コントロール (EGFP-KD) と比較して Piwi を欠失させた状態 (Piwi-KD) で様々なエピゲノム変化が引き起こされる。

さらに、Piwi-piRNA によるヘテロクロマチン形成の再構成系の構築を進めた。PPNp 複合体構成因子をλN-boxB システムを用いてレポーターの転写産物上に強制的に繫留する系を構築し、Piwi-piRNA によるヘテロクロマチン形成を再構成できることを確認した (Murano et al., 2019)。これを用いて解析した結果、piRNA は PolIII の抑制とヘテロクロマチン形成の二段階での制御を行うというモデルが新たに見出された。さらにこの段階的な変化のうち、活性型ヒストン修飾の除去がまず起こり、抑制性のヒストン修飾が加わること、さらには、核膜付近への piRNA 標的領域の局在がまず起こり、その後ゲノム三次元構造変化が起こることが示された (Iwasaki et al., 2021)。これらの解析結果から、Piwi-piRNA によるヘテロクロマチン形成の段階的かつ空間的な制御を明らかにすることができた。

5 非コード領域の大部分を占めるトランスポゾンによるゲノム機能の制御

「利己的な遺伝子」としても知られるトランスポゾンは、転移によりゲノム中を移動し、種類によっては自身の配列コピー数を増幅させるという性質をもつ (Bourque et al., 2018)。この性質から、ゲノム中のトランスポゾンが占める割合は、ヒトゲノムの約半分にもものぼる。トランスポゾンの転移はタンパク質コード遺伝子の機能の破綻や、ゲノムの不安定化などの原因となることから、前述した piRNA を介した発現制御など、様々な制御機構によりその発現が押さえ込まれている (Ohtani and Iwasaki, 2021)。その一方で、トランスポゾン自身が機能を持つ例もある。ショウジョウバエをはじめとした一部の昆虫では、トランスポゾンがテロメアを構成していることが知られている (Mason and Biessmann, 1995)。これらの生物のテロメアは、哺乳類のようなリピート配列の代わりにトランスポゾンにより形成されている。テロメアの伸長についても、トランスポゾンの転移により行っている。一方でトランスポゾンが数千塩基の長さから成ることから、常に転移を繰り返すとテロメア領域が長大になり逆にゲノム安定性の維持に支障をきたす。そこでテロメア構成トランスポゾンの発現のオン・オフを切り替えるシステムが必要となるが、これについては不明な点が多い。現在ゲノム高次構造による制御がどのよう

にテロメア構成トランスポゾンの発現調整を担っているかに着目して解析を進めている。

トランスポゾンは、真核生物ゲノムの極めて大きな領域を占めるにもかかわらず、その機能的な重要性はほぼ未知でありゲノム科学における本質的な謎として残されている。一方で、トランスポゾンは特定のゲノム構造をもつ領域に集中する傾向が報告されるなど、機能的役割が示唆される知見も多く、トランスポゾンによるゲノム機能発現制御の解明は、核内動態に関する新たな分野の開拓に繋がることも期待される。今後はトランスポゾン自体がゲノム高次構造や遺伝子発現にどう影響するかという部分にも焦点を当てて研究を進めたい。さらには、非コードゲノム領域の機能を再構成することで、新たなゲノム改変ツールの構築に繋がらないかという視点からも研究を進める。ゲノム科学の重要な未開拓領域である非コードゲノム領域の理解を目指したい。

6 おわりに

高校時代、進路について考えた際に、「後世に残るような発見」に憧れ、研究者を目指すことにした。さらに何を研究する研究者になるか考えた際に、「そうだ食べ物が好きだから食べ物を研究できる大学に行こう！」という安直な思いから、栄養学系や農学系の学部がある志望校を選び受験勉強に取り組んでいた。センター試験の出来がまいちで不安になるなか、実家に近い私立大学も受験したほうが良いのではないかと思い悩み、手に取った慶應SFCのパンフレットに掲載された富田さん(富田勝教授)の研究紹介記事が運命的な出会いとなった。そこに紹介されていた研究は、コンピューターを使ってイネの代謝シミュレーションを行うというもので、「そんなかたちで食べ物の研究ができるのか！」と衝撃を受けた。最先端の研究について魅力的に語られる記事やおしゃれなコテージで活発なディスカッションが行われる様子が撮影された写真は、高校生の私に眩しく映った。結果的に元々第一志望と思いついた受験勉強に励んできた大学にも合格できたものの、すっかり富田さんに魅せられた私は、周囲に「これまでの志望校はどうした？」と驚かれながらSFCへの進学を決意した。この出会いがなければ今の私はなかったと思う。富田

さんは大学生に対する講義はもちろんのこと、高校生に研究の魅力を伝えることにも尽力されている。実際に私のように富田さんとの出会いがきっかけで運命が変わった学生や研究者も多いのではないかと推察する。私も富田さんにお声がけいただき、毎年アウトリーチ活動に参加し、改めて研究の要点を分かりやすく伝える難しさと重要性を実感している。富田さんに教えていただいたことを生かしながら、次世代にとって魅力的な研究者となれるよう精進していきたい。

本稿を読んでいただいた方は、私が現在は全く食べ物の研究をしていないことにお気づきかと思う。私の研生活は、最初はイネの代謝シミュレーションからスタートしたものの、実はその後、金井さん（金井昭夫教授）のRNAグループに入り、小分子RNA研究をはじめたことが現在進めている研究に繋がっている。金井さんは確固とした世界観をもって研究をされている研究者で、そういった部分に強い憧れを抱きながら沢山のことを学ばせていただいた。金井さんとは今でも学会などでお会いできる機会も多く、叱咤激励いただいている。他にも沢山の魅力的なSFCの教員の方々、先輩方、同期や後輩との出会いにより、研究者としての基盤を築くことができ、本稿で紹介した研究を進める原動力とできたことは言うまでもなく、この場を借りて改めて感謝したい。

引用文献

- Bourque, G., Burns, K.H., Gehring, M., Gorbunova, V., Seluanov, A., et al. (2018) “Ten things you should know about transposable elements”, *Genome Biol.* 19, 199. 10.1186/s13059-018-1577-z.
- Ghildiyal, M., and Zamore, P.D. (2009) “Small silencing RNAs: an expanding universe”, *Nat Rev Genet.* 10, pp. 94-108. 10.1038/nrg2504.
- Gregory, T.R. (2005) “Synergy between sequence and size in large-scale genomics”, *Nat Rev Genet.* 6, pp. 699-708. 10.1038/nrg1674.
- Hasuwa, H., Iwasaki, Y.W., Au Yeung, W.K., Ishino, K., Masuda, H., et al. (2021) “Production of functional oocytes requires maternally expressed PIWI genes and piRNAs in golden hamsters”, *Nat Cell Biol.* 23, pp. 1002-1012. 10.1038/s41556-021-00745-3.
- Hirano, T., Iwasaki, Y.W., Lin, Z.Y., Imamura, M., Seki, N.M., et al. (2014) “Small RNA profiling and characterization of piRNA clusters in the adult testes of the common marmoset, a model primate”, *RNA.* 20, pp. 1223-1237. 10.1261/rna.045310.114.
- Ishino, K., Hasuwa, H., Yoshimura, J., Iwasaki, Y.W., Nishihara, H., et al. (2021) “Hamster PIWI proteins bind to piRNAs with stage-specific size variations during oocyte maturation”,
-

- Nucleic Acids Res.* 49, pp. 2700-2720. 10.1093/nar/gkab059.
- Ishizu, H., Iwasaki, Y.W., Hirakata, S., Ozaki, H., Iwasaki, W., et al. (2015) "Somatic Primary piRNA Biogenesis Driven by cis-Acting RNA Elements and trans-Acting Yb", *Cell Rep.* 12, pp. 429-440. 10.1016/j.celrep.2015.06.035.
- Iwasaki, Y.W., Kiga, K., Kayo, H., Fukuda-Yuzawa, Y., Weise, J., et al. (2013) "Global microRNA elevation by inducible Exportin 5 regulates cell cycle entry", *RNA.* 19, pp. 490-497. 10.1261/rna.036608.112.
- Iwasaki, Y.W., Murano, K., Ishizu, H., Shibuya, A., Iyoda, Y., et al. (2016) "Piwi Modulates Chromatin Accessibility by Regulating Multiple Factors Including Histone H1 to Repress Transposons", *Mol Cell.* 63, pp. 408-419. 10.1016/j.molcel.2016.06.008.
- Iwasaki, Y.W., Siomi, M.C., and Siomi, H. (2015) "PIWI-Interacting RNA: Its Biogenesis and Functions", *Annu Rev Biochem.* 84, pp. 405-433. 10.1146/annurev-biochem-060614-034258.
- Iwasaki, Y.W., Sriswasdi, S., Kinugasa, Y., Adachi, J., Horikoshi, Y., et al. (2021) "Piwi-piRNA complexes induce stepwise changes in nuclear architecture at target loci", *EMBO J.* 40, e108345. 10.15252/embj.2021108345.
- Mason, J.M., and Biessmann, H. (1995) "The unusual telomeres of *Drosophila*", *Trends Genet.* 11, pp 58-62. 10.1016/s0168-9525(00)88998-2.
- Mattick, J.S. (2004) "RNA regulation: a new genetics?", *Nat Rev Genet.* 5, pp. 316-323. 10.1038/nrg1321.
- Morris, K.V., and Mattick, J.S. (2014) "The rise of regulatory RNA", *Nat Rev Genet.* 15, pp. 423-437. 10.1038/nrg3722.
- Murano, K., Iwasaki, Y.W., Ishizu, H., Mashiko, A., Shibuya, A., et al. (2019) "Nuclear RNA export factor variant initiates piRNA-guided co-transcriptional silencing", *EMBO J.* 38, e102870. 10.15252/embj.2019102870.
- Murota, Y., Ishizu, H., Nakagawa, S., Iwasaki, Y.W., Shibata, S., et al. (2014) "Yb integrates piRNA intermediates and processing factors into perinuclear bodies to enhance piRISC assembly", *Cell Rep.* 8, pp. 103-113. 10.1016/j.celrep.2014.05.043.
- Namba, Y., Iwasaki, Y.W., Nishida, K.M., Nishihara, H., Sumiyoshi, T., and Siomi, M.C. (2022) "Maelstrom functions in the production of Siwi-piRISC capable of regulating transposons in *Bombyx* germ cells", *iScience.* 25, 103914. 10.1016/j.isci.2022.103914.
- Nishida, K.M., Iwasaki, Y.W., Murota, Y., Nagao, A., Mannen, T., et al. (2015) "Respective functions of two distinct Siwi complexes assembled during PIWI-interacting RNA biogenesis in *Bombyx* germ cells", *Cell Rep.* 10, pp. 193-203. 10.1016/j.celrep.2014.12.013.
- Nishida, K.M., Sakakibara, K., Iwasaki, Y.W., Yamada, H., Murakami, R., et al. (2018) "Hierarchical roles of mitochondrial Papi and Zucchini in *Bombyx* germline piRNA biogenesis", *Nature.* 555, pp. 260-264. 10.1038/nature25788.
- Ohtani, H., and Iwasaki, Y.W. (2021) "Rewiring of chromatin state and gene expression by transposable elements", *Dev Growth Differ.* 63, pp. 262-273. 10.1111/dgd.12735.
- Parrish, N.F., Fujino, K., Shiromoto, Y., Iwasaki, Y.W., Ha, H., et al. (2015) "piRNAs derived from ancient viral processed pseudogenes as transgenerational sequence-specific immune memory in mammals", *RNA.* 21, pp. 1691-1703. 10.1261/rna.052092.115.
- Sato, K., Iwasaki, Y.W., Shibuya, A., Carninci, P., Tsuchizawa, Y., et al. (2015) "Krimper Enforces an Antisense Bias on piRNA Pools by Binding AGO3 in the *Drosophila* Germline", *Mol Cell.* 59, pp. 553-563. 10.1016/j.molcel.2015.06.024.
- Siomi, H., and Siomi, M.C. (2009) "On the road to reading the RNA-interference code", *Nature.* 457, pp. 396-404. 10.1038/nature07754.

- Watanabe, Y., Kishi, A., Yachie, N., Kanai, A., and Tomita, M. (2007a) “Computational analysis of microRNA-mediated antiviral defense in humans”, *FEBS Lett.* 581, pp. 4603-4610. 10.1016/j.febslet.2007.08.049.
- Watanabe, Y., Tomita, M., and Kanai, A. (2007b) “Computational methods for microRNA target prediction”, *Methods Enzymol.* 427, pp 65-86. 10.1016/S0076-6879(07)27004-1.
- Watanabe, Y., Tomita, M., and Kanai, A. (2008) “Perspective in the evolution of human microRNAs: copy number expansion and acquisition of target gene specialization”, *Progress of Theoretical Physics Supplement.* 173, pp. 219-228. 10.1143/PTPS.173.219.
- Watanabe, Y., Yachie, N., Numata, K., Saito, R., Kanai, A., and Tomita, M. (2006) “Computational analysis of microRNA targets in *Caenorhabditis elegans*”, *Gene.* 365, pp. 2-10. 10.1016/j.gene.2005.09.035.
- Yamada, H., Nishida, K.M., Iwasaki, Y.W., Isota, Y., Negishi, L., and Siomi, M.C. (2022) “Siwi cooperates with Par-1 kinase to resolve the autoinhibitory effect of Papi for Siwi-piRISC biogenesis”, *Nat Commun.* 13, 1518. 10.1038/s41467-022-29193-9.

[受付日 2022. 6. 29]