OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Squash functions as the co-factor of Spindle-E and ensures Argonaute 3 stability for germline piRNA biogenesis in Drosophila
Author(s)	Xu, Xin
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105615
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

Form 3

Abstract of Thesis

Name (XU XIN)	
Title	Squash functions as the co-factor of Spindle-E and ensures Argonaute 3 stability for germline piRNA biogenesis in *Drosophila* (Squash は Spindle-E の共因子として機能し、Argonaute 3 を安定化することで piRNA 生合成に寄与する)

Abstract of Thesis

PIWI-interacting RNAs (piRNAs) repress the expression of moveable transposons (TEs) and protect the integrity of genome in animal gonads. In *Drosophila* germline cells, piRNAs are produced in membraneless granules called nuage via the heterotypic ping-pong pathway performed by Aub and Ago3, known as PIWI family proteins. The Tudor-domain protein Tejas (Tej) promotes nuage assembly and piRNA precursor processing by recruiting the RNA helicases Vasa (Vas) and Spindle-E (Spn-E).

However, the function of another nuage component, Squash (Squ), which does not have any known domains/motifs, remains elusive. Here, we confirmed loss function of squ could lead to the upregulation of TEs and found the accumulation of piRNA precursors like *42AB* and *38C* on nuage, suggesting that Squ may function for the processing of piRNA cluster transcripts. Squ depletion also results in a severe reduction of Ago3 protein and its bound piRNAs, while Aub-Aub homotypic ping-pong occurs in *squ* mutants in an Ago3-dependent manner. Besides, we found that Squ interacted with Spn-E, and such the interaction is required for the TE repression and piRNA precursor processing. Based on these results, our findings identify Squ as a critical factor for heterotypic ping-pong amplification by maintaining Ago3 protein level and for piRNA precursor processing by modulating Spn-E helicase activity.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名（　XU XIN　）		
	（職）	氏　名
論文審査担当者	主 査　教 授　甲斐 歳恵	
	副 査　教 授　廣瀬 哲郎	
	副 査　教 授　井上 大地	
	副 査　准 教授　岡本 浩二	

論文審査の結果の要旨

piRNA 経路は、生殖細胞においてトランスポゾンの発現および転移を抑制し、次世代へ継承されるゲノムの安定性を維持するために必須の分子機構である。nuage に局在する因子 Squash (Squ) は piRNA 経路に関与すると報告されてきたが、既知の機能ドメインを持たず、その分子機能は未解明であった。申請者は、squ 変異体において PIWI ファミリー因子 Ago3 のタンパク質量が著しく低下しており、Aub-Ago3 間の heterotypic ping-pong 増幅が破綻し、Aub 同士による homotypic ping-pong が駆動していることを見出した。また、piRNA 前駆体転写産物が核膜近傍の nuage 周辺に局所的に蓄積することを示し、前駆体のリクルート後の処理過程が停滞していることを示唆した。さらに、Squ が RNA ヘリカーゼ Spindle-E (Spn-E) と直接相互作用すること、その相互作用に必須な保存性アミノ酸残基を同定したこと、ならびに相互作用を阻害する点変異体が in vivo において前駆体処理不全、トランスポゾン脱抑制、生殖能低下を再現することを示した。これにより、Squ が Spn-E 依存的な前駆体処理および Aub-Ago3 間の heterotypic ping-pong 増幅を成立させるための必須補因子であることが強く裏付けられた。Ago3 の安定化は Spn-E との相互作用が必須ではない可能性も示され、Squ が (1) Spn-E 依存的な RNA 処理促進機能と、(2) Spn-E 非依存的な Ago3 タンパク質量維持機能という、少なくとも二つの独立した機能を担うことが示唆された。本研究は、nuage における piRNA 生合成の分子機構を階層的に整理し、新たな制御層を提示するものであり、学術的独創性および新規性の高い成果である。

以上より、本論文は博士学位授与に値する内容であると認める。

申請者の研究成果の一部は、2025年に国際ピアレビュージャーナル eLife に申請者を第一共著者として発表されており、本論文の主要内容については、現在、国際ピアレビュージャーナルにて審査中である。

なお、iThenticate 2.0 による剽窃スコア算出、および引用漏れ・二重投稿等のチェックは完了していることを申し添える。