

論文審査の結果の要旨

氏名 平 形 樹 生

本論文は10章からなる。第1章には、本論文全体の要旨が英文及び和文で記されている。第2章は略語集、第3章はイントロダクションである。第4章には本研究の目的が、第5章には実験手法が記されている。また、第6章には実験の結果が、第7章には考察が述べられている。第8章には本論文の結論がまとめられている。第9章には参考文献が、第10章には謝辞がそれぞれ記載されている。

動物の生殖組織では、piRNA と呼ばれる小分子 RNA がトランスポゾンの発現を抑制している。トランスポゾンの発現は生殖細胞のゲノムの損傷をもたらすため、piRNA が正常に機能することは動物が次世代を残す上で必要不可欠である。piRNA 生合成因子である Yb タンパク質は、ショウジョウバエ卵巣体細胞 (OSC) において piRNA の前駆体となる RNA を選択する役割を持つ。Yb のヘリカーゼドメインは、RNA との結合や Yb body と呼ばれる細胞質顆粒の形成に必須であることが報告されている。一方、Yb が持つ Helicase-C terminal (Hel-C) ドメイン及び extended Tudor (eTud) ドメインの機能は未解明であった。また、Yb body の形成機構や機能の詳細も不明であった。本研究は、Yb の Hel-C ドメインと eTud ドメインの機能、及び、Yb body の形成機構と機能を明らかにすることを目的としており、以下の結果を得ている。

1. Yb body 構成因子の階層性を明らかにするため、OSC を用いたノックダウン解析を行い、Yb タンパク質が他の Yb body 構成タンパク質に依存せずに顆粒を形成することを明らかにした。
2. Yb が持つ Hel-C ドメイン及び eTud ドメインの機能を明らかにするため、各ドメインの欠失変異体を OSC に発現させ、免疫沈降法による相互作用解析を行った。その結果、Hel-C ドメインが自己会合を担うこと、eTud ドメインが他のタンパク質や piRNA の前駆体との結合を担うことが明らかになった。
3. 変異体を発現させた OSC を免疫染色法によって解析し、Hel-C ドメイン及び eTud ドメインがどちらも Yb body の形成に必須であることを示した。
4. 先行研究において、OSC でトランスポゾンを抑制する piRNA の多くは *flamenco* (*flam*) と呼ばれる遺伝子間領域に由来し、*flam* RNA が Yb body の形成に必須であることが報告されている。本研究では、変異体 Yb 発現時の piRNA の検出及び配列解析を行い、eTud ドメインが piRNA 生合成に必須であること、及び、Hel-C ドメインが *flam* 由来の piRNA の効率的な産生に必要であることを明らかにした。
5. ライブセルイメージングによって Yb body の挙動を観察し、Yb body が液-液相分離によって形成されることを示唆する結果を得た。

以上の結果から本研究では、Yb タンパク質の Hel-C ドメインが自己会合を、eTud ドメ

ンが RNA や他のタンパク質との相互作用を担うことが初めて明らかとなった。また、Yb の自己会合や *flam* RNA との結合が相分離を引き起こし、Yb body を形成することも示唆された。さらに本論文では、Yb body の機能についても、*flam* RNA と piRNA 生合成因子を集積し、トランスポゾンの抑制に寄与する *flam* piRNA の産生効率を特異的に向上させるという新規モデルが提唱された。本論文の成果は、piRNA によるトランスポゾン抑制機構について、特にその標的選択性を理解する上で重要なものである。

なお、本論文第 2 章は、石津 大嗣、藤田 あおい、巴 裕美子、塩見 美喜子との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。