

# 論文審査の結果の要旨

氏名 木 下 達 貴

本論文は Abstract, Abbreviations, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Conclusion, Figures, Tables, References, Acknowledgement から構成されている。Abstract には本論文の要旨が記載されており、Abbreviations には略語がまとめられている。

Introduction では、生殖組織特異的な小分子 RNA である piRNA の機能と生合成経路に関する先行研究および本論文の概要が記述されている。piRNA は生殖組織でのトランスポゾンの発現抑制により、ゲノムの安定性を維持する働きがある。ショウジョウバエでは、細胞質顆粒 (Yb body) において、Yb タンパク質やヘリカーゼドメインを持つ Armi タンパク質が、前駆体 RNA に結合し piRNA を合成する。先行研究では Armi の Yb body への局在や前駆体 RNA への結合が Yb によって制御されること、Armi をレポーター転写産物上に強制的に係留させるテザリング解析により、レポーター配列由来の piRNA が産生されることが報告されていた。しかし Yb と Armi の具体的な機能や、Armi の持つヘリカーゼ活性の役割に関しては不明であった。本論文では、piRNA 生合成における Yb と Armi の機能の解明、Armi の持つヘリカーゼ活性の意義を明らかにすることを目的としている。本論文における実験手法等は Materials and Methods に記述されており、得られた下記の結果 (1-5) は Results にまとめられている。

1. Armi の結合する RNA を網羅的に解析した結果、Armi が piRNA 前駆体に特異的に結合することが明らかとなった。しかし Yb ノックダウン条件下においては、Armi の特異的な RNA 結合能が低下した。
2. テザリング解析により、Yb は piRNA 前駆体の認識に関わり、piRNA そのものの産生には必須ではないこと、さらに Armi は Yb 依存的に piRNA 前駆体へ結合することが判った。
3. 組み換え Armi タンパク質を用いて、ヘリカーゼドメインの機能を解析した結果、ヘリカーゼ活性および piRNA の生合成にその ATP 加水分解活性が必須であることが判った。
4. Armi のヘリカーゼドメインの変異体を用いて、結合する RNA の解析および免疫染色による細胞内局在を解析したところ、その変異体では非 piRNA 前駆体への結合が増加し、また Yb body への局在がなくなり、細胞質へ分散した。つまり Armi のヘリカーゼドメインの活性は、非 piRNA 前駆体からの解離および Yb body への局在に必須であることが判った。
5. Armi のヘリカーゼドメインの変異体の解析から、Armi の Yb body への局在には両者の相互作用が必須であることが判明した。

以上のように本論文では、Yb と Armi が固有の機能を持つこと、また Armi が piRNA 前駆体と結合しトランスポゾンを抑制する piRNA の合成を行うためには、Yb による前駆体認識と Armi のヘリカーゼドメインが持つ ATP 加水分解活性が必須であることを初めて明らかにした。

Discussion および Conclusion では得られた結果に対する考察および今後の展望が記載されている。本論文の成果は、トランスポゾン抑制に必須である piRNA 前駆体の選択的な認識や piRNA の生合成機構を理解する上で重要であるといえる。Figures, Tables, References, Acknowledgement には、それぞれ、図、表、参考文献目録、謝辞が記載されている。なお、本論文は、石津大嗣博士、平形樹生博士、小松崎ちひろ氏、塩見美喜子博士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ており、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。