

論文審査の結果の要旨

氏名 榊原和洋

本論文は、Abstract, Abbreviations, Introduction, Materials and methods, Results, Discussion, References, Acknowledgement からなる。Abstract には研究要旨が記載されている。Abbreviations は本論文に登場する略語がまとめられている。Introduction では piRNA 研究の歴史、piRNA 生合成経路、カイコ piRNA についての先行研究がまとめられている。Materials and methods には研究で用いた手法や使用したプラスミド、抗体等について述べられている。

Results は2つの内容に分かれている。3.1~3.3 ではカイコ piRNA 一次生合成経路における piRNA 成熟化機構について研究がなされている。ここでは、エンドヌクレアーゼである Zucchini (Zuc)が Papi-Siwi 複合体中に含まれる piRNA 中間体を切断し、成熟型 piRNA へとプロセッシングすることが示されている。ノックダウン実験や免疫沈降を用いた相互作用解析によって in vivo での Zuc の働きを評価するとともに、Zuc, Siwi の組換えタンパク質を作製して再構成実験を行うことで in vitro においても Zuc の働きを評価していることが特徴と言える。既存の生殖細胞における piRNA 生合成研究では piRNA 中間体を成熟型 piRNA にプロセッシングする責任ヌクレアーゼは未同定であった。本研究によってその責任ヌクレアーゼが Zuc であると同定され、その機能解析がなされたことに新規性・意義があると考えられる。

3.4~3.11 ではカイコ piRNA 二次増幅経路、ピンポンサイクルにおける Ago3 依存的なアンチセンス piRNA 生合成機構について研究がなされている。Vreteno (Vret)という Tudor タンパク質を Ago3 の補因子として同定し、その分子機能解析を生化学実験で行なっている。そして Vret は nuage という細胞質顆粒体で Ago3-piRISC と Apo-Siwi の足場となり、Ago3 依存的なアンチセンス piRNA 生合成に寄与していることを明らかとした。さらに Siwi ノックダウンを用いたピンポンサイクルの停止によってターゲット RNA 結合状態の Ago3-piRISC を蓄積させ、結合している RNA を網羅的に調べている。そのシーケンス解析では Ago3 が連続的にターゲット RNA を産生している結果を得ている。Ago3 依存的なアンチセンス piRNA 生合成機構は piRNA 生合成研究の中で未知領域が大きい分野であった。本研究によって Vret を Ago3 の補因子として同定し、足がかりとすることでそれを紐解き理解を進めたことに意義がある。また、ターゲット結合状態の Ago3 をはじめて分取することに成功し、ユニークなターゲット RNA の切り出し機構を発見したことも価値があるだろう。

Discussion では Results の内容の考察を行うと同時に、本研究をもとに今後発展が期待される研究領域についてその展望を記している。また、References, Acknowledgement は、それぞれ、参考文献目録、謝辞を記載している。Results の 3.1~3.3 は西田知訓、岩崎由香、山田紘実、村上僚、室田友紀子、川村猛、児玉龍彦、塩見春彦、塩見美喜子と Results の 3.4~3.11 は西田知訓、住吉哲太郎、萬年太郎、川村猛、児玉龍彦、塩見美喜子とそれぞれ共同研究であるが、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。

従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。