

審査の結果の要旨

氏名 鍾 沛原

piRNA (PIWI-interacting RNA) は、ヒトを含めた動物の生殖細胞に存在するわずか30塩基程度の小さなRNAであり、生殖細胞のゲノムをトランスポゾンの脅威から守る役割を持つ。piRNA経路の破綻はトランスポゾンの異常な活性化を伴う不稔を引き起こすことが知られており、piRNAが生殖細胞において正しくトランスポゾンを押さえ込むことは、種の存続には不可欠である。piRNAをつくるために必要な因子の多くは、核のまわりで見られるnuage (ニュアーヂュ) と呼ばれる膜を持たない顆粒状の構造体に局在しているため、nuageはpiRNAが作られる「反応場」と考えられている。しかし、nuageの形成がpiRNA産生に具体的にどのような役割を果たしているのか、という生物学的意義は不明なままであった。本論文は、piRNA研究の代表的なモデルとして使われているカイコ卵巣由来細胞BmN4におけるpiRNA反応場「piP-body」を新たに同定し、nuageとpiP-bodyという2つの異なる反応場の区画化が起こっていることを示すとともに、その適切な区画化が正確なpiRNA産生に必須であることを明らかにしたものである。本論文は全部で6章から成るが、謝辞や引用文献などを除き、論文の核となるのは第1章から第4章までである。第1章ではpiRNA経路、特にnuageおよびpiP-bodyについての基本的な学術背景が、第2章ではnuage/piP-body区画化の分子メカニズムおよび生物学的意義に関する解析結果が、第3章では総合討論が、第4章では方法と材料が、それぞれまとめられている。

第2章では、まず蛍光タンパク質で標識した様々なpiRNA因子をカイコ細胞に発現させ、それらの因子同士の共局在関係を包括的かつ定量的に検証している。これにより、いくつかのpiRNA因子が、nuage以外の新たな構造体に局在していることが明らかにされた。その構造体には、microRNA経路やRNA分解経路に関わることが知られていたP-bodyを構成する因子も含まれていたことから、piP-bodyと名付けられた。カイコには2種類のPIWIタンパク質、SiwiとBmAgo3が存在しているが、興味深いことに、定常状態において野生型のSiwiはnuageに局在しているが、標的切断活性部位に変異を導入したSiwiは、piP-bodyに誤って局在し、他の様々なpiRNA因子をその場にトラップすることによって異常な凝集体が形成されているということが示された。一方、BmAgo3については、野生型も切断活性変異体もnuageに局在し、2つのPIWIタンパク質の性質の違いが明らかとなった。さらに様々なデータから、野生型のSiwiは、nuageとP-bodyの間を動的に行ったり来たりしていることが示唆された。また、nuageの代表的な構成要素であるATP依存的ヘリカーゼVasaに活性変異を導入すると、nuageとpiP-bodyの区画化が破綻し、巨大な凝集体が形成されてしまうことも明らかになった。最後に、SiwiやVasaの活性変異体によってnuageとpiP-bodyの区画化が阻害された際に、

piRNA 産生にどのような影響が生じるのかについて、生物情報学的手法によって網羅的な解析が行われた。その結果、区画化を阻害する Siwi の切断活性変異体存在下においては、トランスポゾンを標的とする piRNA の産生には影響があまり無い一方で、通常は産生が抑制されているはずの自己のタンパク質コード遺伝子を標的とする piRNA が異常に増加していることが明らかとなった。すなわち、nuage と piP-body という 2 つの piRNA 反応場間の適切な区画化は、非自己であるトランスポゾンだけに対応する正確な piRNA の産生に重要であることが本論文で初めて明らかにされた。

第 3 章では、第 2 章の実験結果に基づき総括的な討論がなされている。特に、カイコにおける piRNA 反応場の新たなモデルが提案されたほか、その区画化の生物学的意義、さらには、piRNA 経路における ATP 依存的ヘリカーゼの役割などについて、広範囲に議論されている。

なお、本論文は、庄司 佳祐博士、泉 奈津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たもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

よって本論文は博士（科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1866 字