審 査 の 結 果 の 要 旨

氏　　名　　庄司　佳祐

真核生物のゲノムにコードされるトランスポゾンは、ゲノム中の別の領域に転移することが可能な転移因子である。生殖細胞においてトランスポゾンが転移すると、次世代に変異したゲノム情報が受け継がれるため、生物にとっては致命的になる可能性がある。そのため、動物の生殖巣においては、トランスポゾンの発現を抑制するシステムが存在している。トランスポゾン抑制システムの中核をなすのは、PIWI タンパク質とそれらに結合する PIWI-interacting RNA (piRNA)と呼ばれる 23–30 塩基程度の小さな RNA である。PIWI タンパク質と piRNA を中核とする抑制システムは piRNA 経路と呼ばれ、海綿動物からヒトまで広く保存されている。

カイコ卵巣由来の培養細胞である BmN4 細胞は、piRNA 経路を完全な形で保持するため、piRNA の生合成に関する研究が数多く行われてきた。BmN4 細胞においては、Siwi に結合する 1U piRNA と BmAgo3 に結合する 10A piRNA が存在し、それらが 10 塩基の相補配列を保持したペアになっている。このような 1U と 10A を保持する piRNA 同士のペアは ping–pong 経路と呼ばれる増幅サイクルで産生されると考えられているが、その存在は実験的に証明されているとは言い難い。また、非モデル生物のカイコでは、キイロショウジョウバエのように piRNA 配列のインフォマティクス解析の基盤が整備されていない。一方、近年、体細胞における piRNA の役割に注目が集まっているが、その詳細については不明な点が多い。このような背景のもと、本博士論文は、piRNA 経路を有するカイコ BmN4 細胞を活用して、piRNA 分野における未解明問題にアプローチしたものである。

第 1 章では、カイコの性決定機構の最上位に位置する *Fem* piRNA および *Masc* piRNA のペアと BmN4 細胞を用いて、人工的に ping–pong piRNA を産生するシステムを確立した。このシステムを用いて、バイオインフォマティクス解析によりその存在が示唆されていた ping-pong サイクルの存在を実験的に証明することに成功した。さらに、この実験系を利用することで、ping–pong piRNA の産生には連続した 17 塩基の base pairing が必要であり、22 塩基の base pairing があればそれ以上の base pairing を持つものと遜色無い量の piRNA が産生されることを明らかにした。

第２章では、個々の piRNA について発現量や長さの変化に関する情報を処理するため、piRNA locus という新しい考え方を導入した。piRNA locus を用いて BmN4 細胞に存在する

個々の piRNA の特徴づけを行うことで、sense piRNA、antisense piRNA のいずれもが Siwi に結合している新しい piRNA グループを発見した（Siwi–Siwi piRNA と名付けた）。

第３章では、BmN4 細胞の脂肪細胞分化系を利用して、体細胞分化時における piRNA 経路の変化について研究した。脂肪細胞分化時の各ステージにおいて RNA-seq と piRNA-seq を同じ RNA サンプルを用いて行い、それらに関して比較解析を実施した。その結果、分化に伴い一部のトランスポゾンの発現が脱抑制によって増加すること、Siwi–Siwi piRNA の量が顕著に減少することなどが明らかになった。また、脂肪細胞分化時の piRNA cluster の発現変動が、カイコ胚発生に伴う変動と類似していたことから、BmN4 細胞を用いた体細胞分化系がカイコ初期胚の発生過程における piRNA 経路の変化を模倣していることが示唆された。

以上を要するに、本博士論文は、カイコ培養細胞 BmN4 を利用して piRNA 経路に関する重要な未解決問題にアプローチし、ping-pong サイクルの実験的証明、カイコ piRNA のインフォマティクス解析手法の確立、および体細胞分化時の piRNA 経路の変化を明らかにしたものである。このように、本論文は学術上、応用上、重要な知見を明らかにしたものであり、審査委員一同は、博士(農学)の学位論文として価値があるものと認めた。