九州大学学術情報リポジトリ
Kyushu University Institutional Repository

# Characterization of Yb-body and nuage granule in ovary-derived cultured silkworm cell

アナンダラオ，アショカ，パテエル

https://hdl.handle.net/2324/1866342

出版情報：九州大学，2017，博士（農学），課程博士
バージョン：
権利関係：やむを得ない事由により本文ファイル非公開（2）

氏　　名 ：アナンダラオ アショカ パテエル

論文題名 ：Characterization of Yb-body and nuage granule in ovary-derived cultured silkworm cell
（卵巣由来カイコ培養細胞における Yb-body と nuage 顆粒の解析）

区　　分 ：甲

# 論 文 内 容 の 要 旨

Piwi-interacting RNA (piRNA) は 24-34 nt の生殖系列特異的に発現する小分子 RNA であり、Argonaute タンパク質である PIWI サブファミリータンパク質と相互作用し、生殖細胞の発生とゲノムの同一性の維持において重要な役割を担っている。ショウジョウバエの濾胞細胞では piRNA の生合成は Yb-body と呼ばれる細胞質の顆粒内で行われ、卵母細胞などの生殖系列の細胞では nuage で行われている。カイコ卵巣由来の培養細胞である BmN4 は機能する piRNA 経路を持っており、nuage および Yb-body 関連因子の両方が発現している。これより、BmN4 は nuage だけでなく Yb-body も同一細胞内に存在すると予想される。そこで、本研究では Yb-body 関連因子である BmArmi および BmYb の BmN4 における細胞内存在パターンと nuage 関連因子との関係に着目して研究を行った。

BmArmi と BmYb の BmN4 における局在を調べるために、蛍光タンパク質を融合させた BmArmi と BmYb を BmN4 で発現させた。BmArmi と BmYb は nuage のマーカの BmVasa と nuage に共局在していた。さらに BiFC 法を用いてこれらの相互作用を調べたところ、BmArmi は BmYb、BmAgo3、Siwi、BmVasa と相互作用し、BmYb は BmAgo3、Siwi、BmVasa と細胞質内の顆粒で強く相互作用していることが確認された。この結果は BmArmi と BmYb が nuage において piRNA 生合成に関わっていることを示唆している。また、BmArmi および BmYb の各ドメインを欠失させることで、その局在に関わる機能を解析したところ、BmYb のヘリカーゼドメインが BmVasa の顆粒形成に重要である可能性が示唆された。

次に、RNAi によって BmAgo3、Siwi、BmVasa をノックダウンし、BmArmi と BmYb の局在の変化を解析した。BmAgo3 もしくは Siwi をノックダウンした場合は BmArmi を含む顆粒が nuage へ局在しなくなった。一方、いずれの遺伝子のノックダウンも BmYb の局在に影響を与えなかった。この結果は BmArmi が Siwi-piRISC が生成した primary piRNA を BmAgo3-piRISC へ渡す piRNA loader である可能性を示唆している。

以上の結果より、カイコ卵巣由来の BmN4 の piRNA 経路はショウジョウバエの濾胞細胞や生殖系列の細胞の両方に似た特徴を持っている可能性が示された。この結果はカイコにおける piRNA の生合成の解明のみならず、他の生物における piRNA 研究に大きな進歩をもたらすと考えられる。