

## 卵巣由来カイコ培養細胞における Yb-body と nuage 顆粒の解析

アナンダラオ, アシヨカ, パテエル

<http://hdl.handle.net/2324/1866342>

---

出版情報 : Kyushu University, 2017, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)



氏名	アナンダラオ アショカ パテエル			
論文名	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)			
論文調査委員	主査	九州大学	教授	日下部 宜宏
	副査	九州大学	教授	飯田 弘
	副査	九州大学	准教授	伴野 豊

## 論文審査の結果の要旨

本論文は、カイコ由来の培養細胞を用いて、Piwi-interacting RNA (piRNA) の生合成に関わると考えられている Yb-body と nuage 顆粒の構成を解析したものである。ショウジョウバエの濾胞細胞では primary piRNA の生合成は Yb-body と呼ばれる細胞質の顆粒内で行われている。一方、卵母細胞などの生殖系列の細胞では nuage と呼ばれる顆粒内で、ピンポンサイクルと呼ばれる増幅反応を行い、トランスポゾンなどの抑制に機能していると言われている。自然界には、両者をともに持つ組織や細胞が存在しないため、若干の構成因子の相違はあるものの同一の機能を担う顆粒である可能性も否定できない。カイコ培養細胞は、piRNA 生合成経路を保持している稀な細胞で、piRNA 生合成の場としての Yb-body と nuage 顆粒の研究には最適な材料である。

本研究では、まず、Yb-body 関連因子である BmArmi および BmYb のクローニングおよび、カイコ卵巣由来 BmN4 細胞における細胞内局在パターンの解析を行なった。nuage 顆粒のマーカーである BmVasa に加えて、BmArmi や BmYb などの Yb-body 関連遺伝子は、BmN4 細胞においても発現が認められた。そこで、蛍光タンパク質を融合させた全長の BmArmi と BmYb を BmN4 細胞で発現させたところ、両者は BmVasa とともに nuage 顆粒に共局在していた。さらに BiFC (bimolecular fluorescence complementation) 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を明らかにした。この結果は、カイコ培養細胞では、BmArmi と BmYb が nuage 顆粒において piRNA 生合成に関わっていることを示唆していた。また、BmArmi および BmYb の各機能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 nuage 顆粒形成に重要であることが明らかとなった。

次に、RNAi 法によって BmAgo3、Siwi、BmVasa をそれぞれノックダウンし、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。また、BmVasa をノックダウンすると、nuage 顆粒は形成されないが、BmArmi と BmYb は別の顆粒構造を形成することが明らかとなった。

以上要するに、本論文は、カイコ培養細胞 BmN4 の piRNA 経路はショウジョウバエの濾胞細胞と生殖系列の細胞の両方の経路を併せ持つ特徴を有していること、nuage 顆粒の存在下では、Yb-body 関連因子は nuage 顆粒にリクルートされて、piRNA 生合成に機能していることを明らかにした。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 研究にも大きな進歩をもたらし、昆虫ゲノム科学の発展に寄与する優れた業績である。よって、本論文は博士（農学）の学位に値すると認める。