

Identification and characterization of lepidopteran-specific genes involved in spermatogenesis using the silkworm, *Bombyx mori*.

柿野, 耕平

<https://hdl.handle.net/2324/7182525>

出版情報 : Kyushu University, 2023, 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	柿野 耕平			
論文名	Identification and characterization of lepidopteran-specific genes involved in spermatogenesis using the silkworm, <i>Bombyx mori</i> . (カイコ <i>Bombyx mori</i> を用いた精子形成に関与する鱗翅目特異的遺伝子の同定と機能解析)			
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	角田 佳充
	副 査	九州大学	准教授	岩森 巨樹
	副 査	九州大学	准教授	門 宏明

論文審査の結果の要旨

高等真核生物における配偶子形成や受精は、種の維持や進化に重要なプロセスである。これらに関与する遺伝子群は共通の祖先から派生した生物間で保存されがちであるが、特定の分類群や種においては、ユニークな精子形成機構が存在することも確認されている。例えば、鱗翅目昆虫（カイコ *Bombyx mori* を含む）では、核を持つ有核精子と核を持たない無核精子を生ずること（精子の二型性）が知られている。一方、次世代シーケンサー技術の発展により、多くの非モデル生物においても大規模な配列解析が進み、分類群特異的遺伝子（Taxonomically Restricted Genes、TRGs）の存在が明らかになってきた。これらの TRGs の中には、重要な機能を持つ遺伝子も含まれているが、機能解析が難しく、解析が進んでいない遺伝子が多い。カイコにおいても、TRGs の配列情報は明らかになっているが、その機能はほとんどが未知であり、特に、精子形成に関してはほとんど報告されていない。そこで、本研究では、鱗翅目昆虫特有の精子形成メカニズムを明らかにするため、精巣におけるトランスクリプトームの包括的な分析と発見された TRGs の機能解析を行った。

まず、既存のデータベース群を活用して、カイコ精巣のトランスクリプトームを詳細に解析し、その特徴を明らかにした。その結果、カイコ精巣では全 24,229 遺伝子の 86.5% が発現しており、1,705 の精巣特異的遺伝子が確認できた。さらに、未分化の生殖細胞が集まる stem-region と分化細胞が集まる differentiated-region のトランスクリプトームを独自に取得し、その比較解析を行ったところ、それぞれに特異的に発現する 4,554 遺伝子、3,980 遺伝子を検出した。また、ショウジョウバエの精巣トランスクリプトームとの比較から、stem-region に特異的な 1,204 遺伝子と differentiated-region に特異的な 314 遺伝子が両方で共通して発現していることを明らかにした。

このトランスクリプトーム解析により、鱗翅目昆虫特有かつ機能未知の 47 遺伝子がカイコ精巣で特異的に発現していることが明らかになった。これらの中の一つ、*KWMTBOM008400* のノックダウンは、M 期における中心体の数や配置の異常を引き起こすことが所属研究室の培養細胞での実験で確認されていたため、ゲノム編集による当該遺伝子のノックアウト系統の作出を行った。ノックアウト系統では、稔性に影響があること、有核精子束において精核の整列が不規則になることを明らかにした。また、ノックアウト個体における無核精子の異常の有無を調べるために、異常な無核精子を産生する SxlIn3 系統との交配実験を行ったところ、SxlIn3 の不稔性が改善されたことから、ノックアウト系統が正常な無核精子を産生していること、すなわち、有核精子形成にのみ異常を生じることが明らかにした。

さらに、ゲノム編集によるカイコへの変異導入個体の正確かつ簡便な選抜に必要な T7 Endonuclease I をカイコ-バキュロウイルス発現系を用いて、大量に生産する技術を確立した。組換え T7 Endonuclease I は通常、大腸菌で生産されているが、その過剰発現は宿主に毒性を持つため、大量生産が難しい。そこで、カイコ-バキュロウイルス発現系を用いた T7 Endonuclease I の簡便な生産方法を確立し、ゲノム編集カイコの変異検出に有効であることを実証した。

以上要するに、本論文は、カイコの精子形成に関する基盤データとして、精巢のトランスクリプトームの特徴を明らかにし、これまで機能未知であった鱗翅目昆虫特有 TRGs の 1 つである *KWMTBOM008400* 遺伝子の精子形成における機能を明らかにしたもので、昆虫ゲノム科学、特に、鱗翅目昆虫に特有な精子形成の分子機構解明に大きく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。