

氏名	わきさか けいこ 脇坂 啓子
学位(専攻分野)	博士(学術)
学位記番号	博甲第888号
学位授与の日付	平成30年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	工芸科学研究科 生命物質科学専攻
学位論文題目	Studies on the P-element piRNAs associated with hybrid dysgenesis in <i>Drosophila melanogaster</i> (キイロショウジョウバエにおける P 因子 piRNA と雑種交配不全との関連の研究)
審査委員	(主査)教授 伊藤雅信 教授 山口政光 教授 宮田清司

論文内容の要旨

真核生物のゲノムには多量のトランスポゾン(転移性遺伝因子)が存在するが、トランスポゾンの生物学的意義は明らかでない。本申請論文は、キイロショウジョウバエのトランスポゾン P 因子の転移とその制御メカニズム解明について記載したもので、序論、第1章、および第2章で構成されている。

序論では、研究の背景、目的、および全体の概要が、述べられている。トランスポゾンは染色体上の位置を変えながら自らのコピー数を増やすことができ、その種類や量は生物種により様々である。トランスポゾンは生物進化の推進力の一つとして重要な役割を担っているが、一方、転移の結果生じる染色体切断や挿入/欠損変異などは、近傍遺伝子の正常な働きを大きく攪乱するため、細胞レベル、個体レベルで致命的な影響をもたらすことも少なくない。トランスポゾンは、本来、外来性の寄生性 DNA 配列と考えられ、宿主生物との相互作用にはまだ不明な点が多い。このような学術的背景のもとに、申請者はモデル生物であるキイロショウジョウバエに着眼し、トランスポゾン P 因子の転移とその制御メカニズムの解明を試みた。本論文では、P 因子の転移調節の要因を、母親が卵に付与する転移感受性と、父親由来の P 因子による転移誘導能の2つに分け、それぞれの要因と P 因子 piRNA の関与について解析した結果が述べられている。

第1章では、P 因子転移に対する感受性と piRNA 産生の関係を調査した。P 因子は交配時に F1 個体の生殖細胞で活発に転移し、この結果、卵巣未発達などの遺伝異常(P-M hybrid dysgenesis)を誘引する。この現象は、P 系統(ゲノムに多数の P 因子を持つ)のオスを M 系統(ゲノムに P 因子を持たない)のメスに交配した場合にのみ現れることから、M 系統の母親の卵細胞には、父親のゲノム由来の P 因子の転移を抑制する因子が欠如しているために高い感受性を示すと考えられるが、その抑制因子の物質的基礎は必ずしも明らかでない。申請者は、この抑制因子が、母親ゲノムの P 因子から転写され卵に蓄積した piRNA である可能性を検証するため、野外系統 9 ラインのメスと P 系統のオスを交配した。F1 胚における P 因子 mRNA 発現量は piRNA 量と負の相関を示し、P 因子の転移制御に piRNA 量が重要な役割を持つことを明らかにした。また、申請者は、ゲノム内の P 因子の挿入位置と piRNA 産生の関連を明らかにし、トラ

ンスポゾンの挿入位置が piRNA 産生量を左右することを示した。

第 2 章では、転移誘導性と父親由来の P 因子 piRNA の関係を調査した。様々なレベルの誘導性を示す系統のオスを M 系統のメスに交配し、F1 胚における P 因子 mRNA の発現量と piRNA 産生量を比較した。加えて、用いた系統の P 因子ゲノムの構成と P 感受性の関連を調査した。解析の結果、申請者は、これらの系統を、F1 の胚期において piRNA の生産量が大きいグループ (Q 系統) と小さいグループ (M' 系統) の 2 つに分類し、前者では、piRNA 高産生領域に P 因子が多数挿入していることにより F1 の卵巣で piRNA 産生量が大きいことを見出した。この状態は F2 にも遺伝することから、Q 系統ではオス親のゲノム中の P 因子の構造と挿入位置が、転移誘導に大きな影響を持つ可能性を考察している。一方、piRNA 量が小さい後者のグループでは、P 因子の多くが内部欠損に起因する不完全因子 (1.2 kb) であった。これら不完全因子が盛んに転写されることにより piRNA の生産量を補うように P 因子の誘導性が抑制されることを示した。

これらの結果から申請者は、P 因子 piRNA 産生量が、P 因子の転移感受性と誘導能のどちらにも深く関与しており、胚期の生殖細胞における piRNA 量が P 因子転移活性のおもな決定要因、と結論した。また、宿主細胞が piRNA 産生を介してトランスポゾンの転移を制御するメカニズムの一般性について多面的に考察している。

論文審査の結果の要旨

真核生物のゲノムには多くの反復配列が存在し、その多くは染色体上を飛び回り自らのコピー数を増やすトランスポゾン (転移性遺伝因子) である。トランスポゾン配列の種類や量は生物種により様々であり、例えばヒトでは、32 億塩基対からなるゲノム DNA 配列の約 45% をトランスポゾン関連配列が占めている。トランスポゾンは遺伝子の構造や発現に変化をもたらすことにより、生物進化の推進力の一つとして重要な役割を担っている。一方、トランスポゾンの転移の結果生じる染色体切断や挿入/欠損変異などは、近傍遺伝子の正常な働きを大きく攪乱するため、細胞レベル、個体レベルで致命的な影響をもたらすことも少なくない。トランスポゾンは、水平伝播現象により種の壁を超えて新たな生物種に侵入することから、本来、外来性の寄生性 DNA 配列と考えられる。したがって、侵入を受ける生物とトランスポゾンでは、進化における利害は一致せず、両者は常に競争状態にあると考えられるが、両者の進化戦略の詳細はまだ不明な点が多い。そこでこのような学術的背景のもとに、申請者はキイロショウジョウバエに着眼し、このゲノム中に存在するトランスポゾン P 因子の転移とその制御メカニズムの解明を試みた。

申請者は、まず 9 種類の野外系統を用いて、卵の細胞質が示す P 因子の転移感受性の原因について、おもに次世代シーケンス解析の手法により調査した。その結果、P 因子感受性の高い系統では、卵成熟の過程で卵細胞質に蓄積する piRNA と呼ばれる小分子 RNA の量が、感受性の低い系統に比べて小さく、F1 では胚期において P 因子の mRNA が活発に転写されることを見出した。また、申請者は、ゲノム内の P 因子の挿入位置と piRNA 産生量の関連を明らかにし、トランスポゾンの挿入位置が piRNA 産生量に極めて重要であることを示した (第 1 章)。さらに申請者は、多数の P 因子コピーをもつにも関わらず転移を誘導しない系統を用い、この原因を交配実験と次世代シーケンス解析の手法により調査した。その結果、これらの系統は、F1 の胚期において piRNA 産生量が大きいグループと小さいグループの 2 つに分類できた。前者では、piRNA 高

産生領域に P 因子が多数挿入しているため F1 の卵巣で多量の piRNA が産生されることを見出した。この状態は F2 にも遺伝することから、オス親ゲノムの P 因子の構造と挿入位置が、転移誘導の抑制に極めて大きな影響を持つことが示された。一方後者では、P 因子の多くが内部欠損に起因する不完全因子 (1.2 kb) であり、これらが盛んに転写されることで P 因子の誘導を抑制することが示された (第 2 章)。これらの研究は、キイロショウジョウバエ P 因子の転移制御において piRNA が主な調節因子であることを示したものであり、宿主細胞が piRNA 産生を介してトランスポゾンの転移に介入し、コピー数を制御する仕組みを提唱した点は、進化遺伝学への大きな学術的貢献である。また遺伝子改変技術における導入遺伝子の利用などの観点から社会的にも意義深い。

これらの研究は、申請者が筆頭著者の査読制度のある国際科学雑誌に掲載済みの下記の論文 2 編を基礎としている。下記 2 編の筆頭著者 Keiko Tsuji Wakisaka は、申請者本人に相違ない。

- 1) Keiko Tsuji Wakisaka, Kenji Ichiyangi, Seiko Ohno, and Masanobu Itoh (2017) Diversity of P-element piRNA production among M' and Q strains and its association with P-M hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Mobile DNA* 8: 13.
- 2) Keiko Tsuji Wakisaka, Kenji Ichiyangi, Seiko Ohno, and Masanobu Itoh (2018) Association of zygotic piRNAs derived from paternal P-elements with hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*. *Mobile DNA* 9: 7.