The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マウスPNLDC1のpiRNA産生における3’末端Trimmerとしての役割
Author(s)	西村, 徹
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/61880
rights	© 2018 The Authors. Published under the terms of the CC BY 4.0 license. This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　西村　徹　）	
論文題名	マウスPNLDC1のpiRNA産生における3'末端Trimmerとしての役割 （Role of mouse PNLDC1 as Trimmer in piRNA production）

論文内容の要旨

piRNA（PIWI-interacting RNA）は、PIWIファミリータンパク質に結合する生殖細胞特異的な24-31塩基長の小分子RNAである。piRNA及びPIWIタンパク質は、雄性生殖細胞の維持・分化、及び、レトロトランスポゾンの発現抑制に必須であることが知られている。このpiRNAの生合成過程ではまず、長い一本鎖のRNAが切断されることで成熟型より長いpre-piRNAが産生され、PIWIファミリータンパク質に取り込まれる。取り込まれたpre-piRNAは5’末端がウラシル（1stU）の特徴を持つ。その後、pre-piRNAはトリマーと呼ばれるヌクレアーゼタンパク質により3’末端が削られ、成熟したpiRNAとなる。近年、カイコでエキソヌクレアーゼドメインを持つPNLDC1（poly(A)-specific ribonuclease (PARN)-like domain containing 1）がトリマーとして機能している事が報告された。本研究では、そのマウスオルソログの生体内での機能解析、及び、piRNAの3’末端成熟の生理的な意義を明らかにすることを目的とし、*Pnldc1*欠損マウスを作製した。解析の結果、*Pnldc1*欠損マウスの胎生期及び生後の精巣において、成熟型よりも長いpiRNAが蓄積していること、その長いpiRNAが1stUの特徴を持つことを見出した。加えて、*Pnldc1*欠損マウス精巣ではLINE（long interspersed nuclear element）レトロトランスポゾンのゲノムDNAメチル化レベルの低下と、RNAの発現増加が観察された。また、この欠損マウスでは、減数分裂期の発生異常、及び、半数体で分化異常の二つの表現型が観察された。本研究により、マウスPNLDC1がpiRNAの3’末端形成に重要なトリマーとして機能しており、piRNAの3’末端成熟がレトロトランスポゾンの抑制と精子形成に必須であることが、明らかとなった。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　西村　徹　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	仲野　徹
	副 査	教授	甲斐　歳恵
	副 査	教授	八木　健
	副 査	教授	佐々木　洋

論文審査の結果の要旨

生命機能研究科の西村徹による本研究は、piRNA産生におけるマウスPNMDC1の役割を報告するものである。piRNA(Piwi-interacting RNA)は生殖巣特異的に発現する24-31塩基長の小分子RNAで、PIWI (P-element induced wimpy testis) ファミリータンパク質と複合体を形成し、レトロトランスポゾンの発現抑制に寄与することが知られている。2016年にカイコの生殖培養細胞を用いた研究で、PNLDC1がpiRNAの3’末端をトリミングすることで、piRNAが成熟することが他のグループから発表された。本研究は、その研究の発表に先立ち、協働けんきゅうとして開始された。西村はCRISPER/CAS9システムを用い、複数のPNLDC1変異マウスを作製し、精子形成異常が起こっていることを確認した。また、次世代シーケンサーとバイオインフォマティクスによるpiRNAの解析から、マウスの生体においてもPNLDC1がpiRNAの3’末端のトリミングを行うことを明らかにした。加えて、piRNA依存的なDNAメチル化を受けるレトロトランスポゾンのメチル化状態を調べた結果、正常なメチル化状態と異常なメチル化状態のレトロトランスポゾンが存在し、PNLDC1の依存度がレトロトランスポゾンによって異なることを示した。以上を鑑みて、申請者の研究内容は、学位授与にふさわしいものと認める。