

論文内容の要旨

申請者氏名 岡野 陽介

siRNA (small interfering RNA) は、細胞質でターゲットである mRNA の分解、RNA interference (RNAi) を引き起こすことで有名である。近年、RNAi 分野の研究が盛んに行なわれ、いくつかの RNAi 関連機構が発見された。その中のひとつに、siRNA がゲノム DNA をターゲットし、DNA メチル化やヒストン修飾が伴うエピジェネティックなサイレンシングを引き起こす機構がある。また、このサイレンシングが、レトロトランスポゾンなどのリピート配列のヘテロクロマチン形成に寄与していることが示唆されている。しかし、さまざまなモデル生物で内在性 siRNA の網羅的なクローニングが行なわれ、多くのリピートではない配列も内在性 siRNA と相同性を示すことが明らかとなり、ゲノムの広範囲が siRNA のターゲットに成り得ることが浮き彫りになってきた。そのため、もし全ての内在性 siRNA がゲノムに対して機能的であり、サイレンシングを引き起こすならば、ゲノムは正常に機能しないかもしれない。それゆえ、siRNA の活性がどのように制御されているのか、また siRNA はどのようなゲノム領域に対してもエピジェネティックなサイレンシングを引き起こすのかどうかということは、重要な問題点である。

そこで、申請者の研究ではこれらの問題点を解明するために、イネにおいて、遺伝子のプロモーター領域を人工的に siRNA でターゲットした実験系を構築し、siRNA のさまざまな遺伝子に対する影響を解析した。申請者の研究では、外来遺伝子 *35S-GFP* と 7 つの内在遺伝子をターゲット遺伝子に選択した。すると、*35S-GFP* および 1 つの内在遺伝子ではサイレンシングが誘導されたが、6 つの内在遺伝子では有意なサイレンシングは起こらなかった。エピジェネティック修飾の解析から、サイレンシングの有無に関わらず、siRNA 依存的な DNA メチル化は誘導されていたが、ヒストン修飾の変動はサイレンシングが誘導されているプロモーターでのみ引き起こされていた。これらのことから、siRNA はどのような遺伝子に対してもエピジェネティックなサイレンシングを引き起こすわけではなく、その要因のひとつに、ヒストン修飾を誘導できるかどうかという点が考えられる。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 岡野 陽介

siRNA によるエピジェネティックなサイレンシングについては、シロイヌナズナや分裂酵母におけるリピート配列のヘテロクロマチン形成に関する研究により、その知見が蓄積されてきた。また、シロイヌナズナにおける先行研究では、申請者も解析に用いたプロモーターを siRNA によりターゲットする実験系の分子遺伝学的解析が行なわれ、いくつかのエピジェネティクス関連因子の寄与が明らかとされている。しかし、これまでに得られている知見は、限られた生物種や限られた遺伝子座の解析から得られたものであり、特にタンパク質をコードする内在遺伝子に対する siRNA のエピジェネティックな影響についてはほとんど報告されていない。

本申請者は、外来遺伝子 *35S-GFP* をターゲットにしたサイレンシングの解析から、モデル植物イネにおいても、siRNA によるエピジェネティックなサイレンシングの機構が存在すること、*35S-GFP* のサイレンシングには DNA メチル化と H3K9 のジメチル化を含むヒストン修飾が重要であることを明らかにした。また、このサイレンシングの情報が、siRNA 非依存的に後代へエピジェネティックに遺伝することを明確にした。

また、本申請者は、さまざまな内在遺伝子をターゲットにしたサイレンシングの解析から、プロモーターをターゲットした siRNA は必ずしもサイレンシングを引き起こすわけではないことを示し、その要因のひとつにヒストン修飾の関連性を示唆した。

以上のように、本論文は、siRNA によるエピジェネティックなサイレンシングの理解を向上させるものであり、ゲノムの広範囲が内在性 siRNA のシグナルに晒されている状況のパラドックスに対する説明の可能性を掲げるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。