

氏名・本籍	平 誠司 (兵庫県)
学位の種類	博士 (理学)
報告番号	甲第 91 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
論文題目	ショウジョウバエの生殖細胞中における遺伝子 発現の活性化機構の解析
審査委員	(主査) 准教授 向 正則 (副査) 教授 今井 博之 (副査) 教授 日下部 岳広

### 論文内容の要旨

多細胞動物の体は体細胞系列と生殖細胞系列の細胞に大別される。生殖細胞は種の連続性を担う重要な細胞である。これまでに、様々な動物を材料として、生殖細胞の形成機構の研究が進められてきた。しかし、生殖細胞中で生殖細胞の発生、分化に必要な遺伝子が活性化される分子機構には不明な点が多く残されている。ショウジョウバエにおいて、初期胚の生殖質に含まれる母性因子が始原生殖細胞 (極細胞) に取り込まれ、極細胞の形成や分化に必要であることが示されている。母性因子 **Mamo** は **BTB/POZ** ドメインと **C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型 Zn フィンガード** ドメインをもつクロマチン制御因子で、極細胞に供給され、極細胞の分化に関与する母性因子として同定された。先行研究から、**Mamo** が生殖細胞特異的に発現する遺伝子である *vasa* 遺伝子の発現制御に関与することが予想されたが、その制御機構は不明であった。

申請者は、生殖細胞中における遺伝子発現の活性化機構を明らかにすることを目的として、まず **Mamo** タンパク質の生化学的な性質を解析した。その結果、**Mamo** タンパク質がクロマチンに結合すること、**Mamo** タンパク質の **C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型 Zn フィンガード** ドメイン (**MZD**) が特定の塩基配列に直接結合すること、さらに **MZD** の結合に必要なコンセンサス配列を明らかにした。次に、*vasa* 遺伝子の発現に対する **Mamo** の影響を調べた。その結果、**Mamo** を欠いた極細胞中では、*vasa* 遺伝子の発現が低下すること、**Mamo** 及び **MZD** の強制発現により、*vasa* 遺伝子の発現量が増加することを明らかにした。さらに、クロマチン免疫沈降法を用いて **MZD** が *vasa* 遺伝子座のイントロン中の塩基配列と結合することを示した。また、**MZD** 強制発現により、**MZD** 結合部位において、転写の活性化に関わるヒストン **H3** の 27 番目のリシン残基のアセチル化修飾レベルが増加することを明らかにした。このヒストン修飾には

ヒストンアセチル化酵素 CBP が関与することが知られている。そこで、申請者は MZD と CBP の遺伝学的相互作用を解析し、MZD と CBP が共同して、*vasa* 遺伝子の発現を活性化することを示した。これらの解析結果から、MZD が CBP を *vasa* 遺伝子座に運び込み、ヒストン修飾を介して転写に適したクロマチン構造を形成し、遺伝子発現を活性化する機構を提唱した。さらに、申請者は、クロマチン構造の制御機構が生殖細胞の分化制御にも関わるのかを検証するために、成虫卵巣中の生殖細胞分化過程におけるヒストン修飾の状態と、その機能を解析した。その結果、生殖細胞の分化過程において、転写の伸長反応の促進に関わるヒストン H3 の 36 番目のリシン残基のトリメチル化修飾レベルが高くなること、この修飾にヒストンメチル化酵素 Set2 が関与すること、さらに、この修飾が分化促進遺伝子 *orb* の発現を活性化し、生殖細胞の分化を促進することを明らかにした。これらの研究結果から、生殖細胞中の遺伝子発現の活性化機構にヒストン修飾を介したクロマチン構造の制御が関与すること示した。

## 審査結果の要旨

生殖細胞はヒトを含めた生物種の連続性を担う特殊な細胞であり、その形成機構の解明は、基礎生物学、生殖医学の重要な課題の一つである。これまでに、始原生殖細胞中で体細胞性遺伝子の発現を抑制する機構が势力的に解析されてきたのに対して、始原生殖細胞中で生殖細胞の分化に関わる遺伝子がどのように活性化されるのか、その分子機構に関する知見は少ない状況であった。生殖細胞関連遺伝子の一つ *vasa* 遺伝子はショウジョウバエ、マウス、ヒトを含めた多くの動物種で保存されており、この発現が始原生殖細胞の成立のマーカー遺伝子として広く研究に用いられている。申請者は、生殖細胞中における遺伝子発現の活性化機構を明らかにすることを目的として解析を行い、ショウジョウバエの胚期の *vasa* 遺伝子の発現活性化に母性因子 Mamo が関与すること、Mamo タンパク質の C<sub>2</sub>H<sub>2</sub> 型 Zn フィンガードメインが *vasa* 遺伝子に直接作用し、その発現を活性化すること、この活性化にヒストンアセチル化を介したクロマチン構造の制御が関わることを明らかにした。この結果は、始原生殖細胞中の遺伝子発現の活性化にクロマチン構造の制御が重要であることを示しており、遺伝子の発現制御の観点から始原生殖細胞の成立機構を理解する基礎として高く評価できる。また、申請者は、成虫卵巣中の生殖細胞の分化過程の研究を行い、ヒストンのメチル化を介したクロマチン構造の変化が遺伝子発現を活性化し、生殖細胞の分化を促進することを示した。これらの成果は、ショウジョウバエの生殖細胞の発生、分化過程において、ヒストン修飾を介したクロマチン構造の制御が重要な役割をもつことを明らかにするものであり、先駆的な研究として高く評価できる。

本研究の成果は、国際シンポジウム「Germline the 58<sup>th</sup>/60<sup>th</sup> NIBB Conference “Specification, Sex and Stem cells” (2012 年, 岡崎)」、国内学会「第 34 回日本分子生物学会」、「日本動物学会第 82~85 回大会」などで発表されている。また、本研究の成果の一部は、国際学術誌(副論文 2 編)に掲載・受理され、国内外で高い評価を受けている。

2015 年 1 月 30 日、本学の学位規程に従い公開講演を行い、本論文に関する説明と質疑応

答を行った。申請者の説明は明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により、審査委員は、本論文提出者（平 誠司）が博士課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査および最終試験に合格したので、博士（理学）の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。