

氏名・本籍	中村 翔一 (山口県)
学位の種類	博士 (理学)
報告番号	甲第 114 号
学位授与の日付	令和 2 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	ショウジョウバエ始原生殖細胞中における <i>vasa</i> 遺伝子の発現活性化機構の解析
審査委員	(主査) 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

多細胞動物において、生殖細胞は遺伝情報を次世代に伝える重要な細胞である。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の発現が活性化される機構には不明な点が多い。先行研究から、ショウジョウバエの *Mamo* (*maternal factor required for meiosis*) タンパク質は BTB/POZ ドメインと C₂H₂ 型 Zn フィンガードメインをもつ転写制御因子で、この動物の始原生殖細胞である極細胞中における生殖細胞性遺伝子 *vasa* (*vas*) 遺伝子の発現活性化に必要であることが明らかにされている。また、*Mamo* の Zn フィンガードメインが *vas* 遺伝子座の特定の塩基配列に結合すること、Zn フィンガードメインをもつが、N 末端の BTB/POZ ドメインを欠いた断片化タンパク質 (*MamoAF*) が *vas* 遺伝子の発現を強く活性化することが示されている。

本研究では、極細胞中における *vas* 遺伝子の発現の活性化機構を明らかにすることを目的として、*Mamo* の性質を解析した。その結果、*MamoAF* に似た構造をもつ *Short Mamo* タンパク質をコードする mRNA が極細胞中で特異的に発現すること、さらに、*MamoAF* が極細胞中で *vas* 遺伝子の発現を強く促進することが分かった。これらの結果から、*Short Mamo* が *vas* 遺伝子に対する強い活性化因子であることが明らかになった。そこで、*vas* 遺伝子の発現活性化の分子機構を解析するために、*MamoAF* に注目して解析を進めた。*MamoAF* と遺伝学的に相互作用する遺伝子を探索する実験系を構築し、複眼の表現型を指標としたスクリーニングを行った。その結果、*MamoAF* の遺伝学的相互作用因子として、転写活性化因子 *OvoB*、基本転写因子 *TBP* のホモログである *TRF2* を同定した。そこで、生殖細胞中におけるこれらの因子の機能を解析した。その結果、*OvoB* が *MamoAF* による *vas* 遺伝子の発現活

性化に必要であること、極細胞中において、MamoAF と OvoB が共同して *vas* 遺伝子の発現を促進することが明らかとなった。また、*Trf2* mRNA が発生過程を通して生殖細胞中で連続的に発現すること、TRF2 が極細胞中における *vas* 遺伝子の発現活性化に関与すること、MamoAF による異所的な *vas* 遺伝子の発現活性化に TRF2 が必要であることが明らかとなった。本研究によって、MamoAF を中心とした制御ネットワークに転写活性化因子 OvoB、基本転写因子ホモログ TRF2 が含まれること、このネットワークが極細胞中の *vas* 遺伝子の発現活性化に重要であることが明らかになった。

審査結果の要旨

生殖細胞は遺伝情報を次世代に伝える役割を担い、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、ショウジョウバエの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解析されてきたのに対して、始原生殖細胞中における生殖細胞性遺伝子の発現活性化の機構に関する知見は少ない状況であった。生殖細胞性遺伝子の一つ *vas* 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、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。しかし、その発現活性化の分子機構は不明であった。先行研究から、ショウジョウバエの Mamo タンパク質が極細胞中における *vas* 遺伝子の発現活性化に必要であること、Zn フィンガードドメインをもつが、BTB/POZ ドメインを欠いた MamoAF タンパク質が強く *vas* 遺伝子の発現を活性化することが示されていた。しかし、MamoAF が極細胞中で *vas* 遺伝子の発現を活性化する分子機構は不明のままであった。申請者は、極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、MamoAF に似た構造をもつ新たなアイソフォーム Short Mamo タンパク質を同定し、Short Mamo をコードする mRNA が始原生殖細胞中で特異的に発現することを明らかにした。さらに、MamoAF の共同作用因子として、転写活性化因子 OvoB、基本転写因子ホモログ TRF2 を同定した。OvoB が MamoAF と共同して、極細胞中の *vas* 遺伝子の発現を活性化することを明らかにした。さらに、TRF2 の解析を行い、*Trf2* mRNA が生殖細胞中で連続的に発現すること、TRF2 が極細胞中における *vas* 遺伝子の発現活性化に関与すること、MamoAF による異所的な *vas* 遺伝子の発現活性化に TRF2 が必要であることを示した。本研究により、Short Mamo、転写活性化因子 OvoB、基本転写因子ホモログ TRF2 が極細胞中の *vas* 遺伝子の発現活性化に重要な働きをもつことが示された。これら遺伝子のホモログがヒトを含めた哺乳類にも保存されており、本研究の成果は、ショウジョウバエだけでなく他の動物の生殖細胞の理解にも貢献すると予想できる。このため、本研究を生殖細胞の分子基盤を理解するための先駆的な研究として高く評価できる。本研究の成果は、国際会議「第 22 回国際動物学会議 (2016 年、沖縄)」、国内学会「第 39~42 回日本分子生物学会」、「日本動物学会第 88~90 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 1 編) に掲載・受理され、国内外で高い評価を受けている。2020 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，下記審査委員は，本論文提出者（中村 翔一）が博士後期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。