

## 博士論文要約

中村 翔一

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 **C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>** 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、まず **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が明らかとなった。**MamoAF** を用いて **Short Mamo** の機能解析を試みた結果、初期胚全体で **MamoAF** を強制発現することで、脳の神経細胞近傍で *vas* 遺伝子の異所的な発現が誘導されることが分かった。さらに、**Mamo** 全長と比べて、**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。

次に、*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。

まず、**Ovo** と **MamoAF** との相互作用を解析した。*ovo* 遺伝子座は生殖細胞中において、機能の異なる二種類のアイソフォーム **OvoA**、**OvoB** を作り出すことが知られている。これらは **C** 末端の **DNA** 結合ドメイン、転写活性化ドメインは共有しているが、**N** 末端の構造が異なり、**OvoA** は **N** 末端に転写抑制ドメインをもっており、転写抑制因子として機能することが知られている。極細胞中において、主に転写活性化因子 **OvoB** が発現すること、**OvoA** が **OvoB** の転写活性化作用を特異的に抑制することが報告されている。そこで、**Ovo** が **MamoAF** と共同

して *vas* 遺伝子の発現を制御するか調べるために、まず初期胚全体で強制発現を行い、解析を行った。その結果、MamoAF を強制発現した状態で OvoA を強制発現することで、*vas* 遺伝子の異所的な発現が抑制されること、MamoAF と OvoB を同時に強制発現することで、MamoAF、OvoB 単独の強制発現ではみられない中枢神経系で *vas* の異所的な発現が誘導されることが分かった。さらに、極細胞中においても、OvoA が MamoAF の効果を抑制すること、OvoB によって *vas* 遺伝子の発現が促進されることが分かった。これらの結果から、極細胞中において、MamoAF と OvoB が共同して *vas* 遺伝子の発現を活性化することが明らかとなった。

次に、TRF2 に注目して解析を行った。複眼を用いたスクリーニング実験から、MamoAF は *Tbp* と比較して *Trf2* と強い遺伝学的相互作用を示すことから、MamoAF が TRF2 と共同して遺伝子発現の制御に関わる可能性が示唆される。そこで、まず、*Trf2* の発現パターンを調べた結果、胚発生過程において、*Tbp* mRNA よりむしろ *Trf2* mRNA が極細胞中で優先的に発現すること、卵形成過程においても、*Trf2* mRNA が生殖細胞中において、連続的に発現することが分かった。また、RNAi を用いたノックダウン実験から、TRF2 が生殖細胞の維持に必要であること、TBP は生殖細胞の分化に関わることを明らかになった。さらに、TRF2 が極細胞中における *zygotic* な *vas* 遺伝子の発現に必要であることが判明した。さらに、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。