

Title	Gtsf1l and Gtsf2 are specifically expressed in gonocytes and spermatids but are not essential for spermatogenesis
Author(s)	竹本, 記章
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59562
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	竹本 記章
論文題名 Title	<i>Gtsf11</i> and <i>Gtsf2</i> are specifically expressed in gonocytes and spermatids but are not essential for spermatogenesis (<i>Gtsf11</i> と <i>Gtsf2</i> は精原細胞と精子細胞において特異的に発現するが精子形成には必要ではない)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>マウスUPF0224ファミリーに属する3つの遺伝子、<i>Gtsf1</i>、<i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>のうち、<i>Gtsf1</i>はマウスの精子形成に必須の遺伝子である。<i>Gtsf1</i>ノックアウトマウスの精巣では、レトロトランスポソンの発現が上昇していることが既に報告されている (Yoshimura et al., 2009) が、その後の解析により、レトロトランスポソンの発現制御に関わる Piwi-interacting RNA (piRNA) の生合成に異常が見られている。そこで、本研究では、マウスUPF0224ファミリーに属する残りの2つの機能未知遺伝子である<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>について、レトロトランスポソンの発現抑制や、piRNA生合成に関与するのかを調べることを目的とした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>マウス精巣における<i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>の発現を解析するために、RT-PCRを行った。その結果、<i>Gtsf11</i> mRNAは、胎齢13.5日から胎齢15.5日の精巣において検出された。また、出生後22日以降の精巣で検出された。<i>Gtsf2</i> mRNAは、胎齢16.5日から胎齢18.5日の精巣において検出された。また、出生後20日以降の精巣で検出された。次に、GTSF1Lタンパク質、GTSF2タンパク質に対する抗体を作製し、この抗体を用いて8週齢精巣の凍結切片を免疫染色したところ、GTSF1Lタンパク質は、伸長精子細胞で検出された。GTSF2タンパク質は、円形精子細胞と伸長精子細胞で検出された。</p> <p><i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>がレトロトランスポソンの発現抑制や、piRNA生合成に関与するかを明らかにするために、GSTプルダウンアッセイにより、GTSF1Lタンパク質とGTSF2タンパク質の両者と、piRNA生合成に関与するPIWIファミリータンパク質のMIWI、MILIとTudorファミリータンパク質のTDRD6、TDRD1との相互作用を調べた。その結果、GTSF1L、GTSF2ともにTDRD6とは相互作用しないが、MIWI、MILI、TDRD1と相互作用することが示された。この相互作用がRNA依存的なものであるか調べるために、RNase A存在下で同様のアッセイを行ったところ、GTSF1Lの相互作用はRNA依存的であり、GTSF2の相互作用はRNA非依存的であることが示された。</p> <p><i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>の生体内における機能を調べるために、ノックアウトマウスを作製し、精子形成に着目し、解析を行った。<i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>のそれぞれの雄ノックアウトマウスにおいて、精子形成は正常であった。このことから、<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>が互いに機能を補っていることが予想された。そこで、<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>の両方が欠損したダブルノックアウトマウスを交配により作出し、精子形成に着目して、解析を行った。しかし、このマウスにおいても精子形成に異常は見出されなかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p><i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>は胎仔期の精原細胞と、出生後の減数分裂を終えた精子細胞で発現することが示された。GTSF1Lタンパク質とGTSF2タンパク質はpiRNA生合成に関わるタンパク質であるMIWI、MILI、TDRD1と相互作用することが示され、レトロトランスポソンの発現制御、及びpiRNA生合成への関与が示唆されたが、生体内において、<i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>を欠損したマウスにおいて、精子形成に異常は見つからなかった。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 竹本 記章	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 宮崎 純一
	副 査 大阪大学教授 山田 徹
副 査 大阪大学教授 山崎 隆二	
論文審査の結果の要旨	
<p><i>Gtsf1</i>遺伝子はマウス精子形成において必須であり、レトロトランスポゾン発現を制御するPIWI interacting RNA (piRNA)経路に必要な遺伝子である。このため、<i>Gtsf1</i>と良く似た構造を持ち、機能未知である<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>もpiRNA生合成に関与するのかに着目し、研究を進めた。</p> <p>まず、<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>の発現部位と発現時期を調べた結果、<i>Gtsf11</i>、<i>Gtsf2</i>ともに精巣で発現していたが、その発現時期は異なっており、<i>Gtsf11</i>は、胎齢13.5日目から15.5日目までの精原細胞と出生後の伸長精子細胞で発現していた。<i>Gtsf2</i>は胎齢16.5日目から18.5日目までの精原細胞と出生後の円形精子細胞で発現していた。</p> <p>piRNA経路に関与するMIWI、MILI、TDRD1、TDRD6と結合するのかを調べるために、GSTプルダウンアッセイを行った。その結果、GTSF1L、GTSF2ともにMIWI、MILI、TDRD1との結合が示唆された。</p> <p><i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>の雄ノックアウトマウスの精子形成を解析したが、異常は見られず、<i>Gtsf11</i>と<i>Gtsf2</i>は精子形成に必須ではないことが示され、本論文が学位の授与に値するものと考えられる。</p>	