OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	マボヤ母性局在因子postplasmic/PEM RNAsによる生殖細胞系列の転写調節機構の解析
Author(s)	宮奥, 香理
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/70674
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

様式3

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　宮奥　香理　）	
論文題名	マボヤ母性局在因子*postplasmic/PEM*RNAsによる生殖細胞系列の転写調節機構の解析

論文内容の要旨

多くの動物種の生殖細胞系列は発生の初期に体細胞系列から分離される。その分離には転写制御機構が極めて重要な役割を果たす。ホヤ胚の生殖細胞系列の細胞には生殖質様の構造を含むCentrosome-Attracting body (CAB)が存在し、CABには*postplasmic/PEM* RNAsと呼ばれる母性mRNA群が局在する。その一つ*Pem*が、4～16細胞期の生殖細胞系列の細胞の核に存在し、体細胞系列からの分離に重要なグローバルな転写抑制をすることが近年明らかになった。しかし、*Pem*以外の*postplasmic/PEM* RNAsが生殖細胞系列の形成にどのように寄与するかは殆ど知られていない。本研究では、生殖細胞系列での転写制御機構の全容を解明することを大きな目的として、*postplasmic/PEM* RNAsの生殖細胞系列での転写制御機能を明らかにすることを目的とした。

まず、生殖細胞系列の細胞で転写抑制に寄与するPem以外の因子を探索した。*postplasmic/PEM* RNAsの一つ*Popk-1*の機能阻害胚では、16細胞期胚の生殖細胞系列の細胞で体細胞遺伝子*FoxD. a*が異所的に発現したことから、Popk-1は生殖細胞系列の細胞で転写抑制を行うことが示唆された。Popk-1機能阻害胚では生殖細胞系列の転写抑制に必要な核でのPemタンパク質の発現が減少し、同時にPemの強制発現を行った胚では、生殖細胞系列の細胞での*FoxD. a*の異所的な発現は消失した。先行研究から、Popk-1機能阻害胚では、CABの*postplasmic/PEM* RNAsの局在自体は正常だが、CABの大きさが縮小し、局在するmRNAの量が減少することが知られている。また、*postplasmic/PEM* RNAsはCABで翻訳されることが示唆されている。以上から、Popk-1は、Pemの翻訳の場であるCABの大きさを制御することで、Pemタンパク質量を間接的に制御し、間接的に生殖細胞系列の細胞での転写を抑制することが示唆された。

次に、Pemによるグローバルな転写抑制後、生殖細胞形成に必要な遺伝子の発現（胚性発現）がどのように始まるかを調べた。先行研究から、Pemタンパク質は発生に伴い減少する事が知られていたので、Pemタンパク質が減少する事で転写抑制が解除され、胚性発現が開始する機構を予想した。そこで、Pemタンパク質を過剰発現させ、発生に伴うPemの減少を抑えた結果、生殖細胞の胚性発現マーカー遺伝子*Clone 45*の発現が減少した。反対に、Pemの機能阻害によってPemタンパク質の減少を早めた結果、*Clone 45*の発現の開始が早まった。以上から、Pemタンパク質が減少することで抑制が解除され、胚性発現が開始することが示唆された。

引き続き、胚性発現を制御する遺伝子の探索を行った。*postplasmic/PEM* RNAsの一つ*Zf-1*の機能阻害胚では生殖細胞系列の細胞で*Clone 45*の発現が減少したことから、Zf-1は胚性発現に必要であることが示唆された。また、Zf-1機能阻害胚では、本来はPemタンパク質が殆ど観察されない時期である64細胞期で、生殖細胞系列の細胞の核でのPemタンパク質量が観察された。さらに、とPemを同時に機能阻害すると、*Clone 45*の発現が回復した。以上から、Zf-1がPemタンパク質をそれぞれ減少させることで胚性発現が開始することが示唆された。

本研究から、Popk-1とZf-1がPemタンパク質レベルを正/負に制御し、生殖細胞系列において適切な転写制御が行われることが示唆された。このことにより、同系列の転写制御機構の大まかな全体像を明らかにすることができた。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　宮奥　香理　）		
	（職）		氏　名
論文審査担当者	主 査	教授	西田宏記
	副 査	教授	橋本主税
	副 査	教授	松野健治
	副 査	教授	熊野岳（東北大学）

論文審査の結果の要旨

多くの動物種の生殖細胞系列は発生の初期に体細胞系列から分離される。ホヤ胚の生殖細胞系列には生殖質様の構造を含む Centrosome-Attracting body (CAB)が存在し、CAB には *postplasmic/PEM* RNAs と呼ばれる母性 mRNA 群が局在する。その一つ *Pem* は、体細胞系列と生殖細胞の分離に重要なグローバルな転写抑制に寄与する因子として、後口動物で初めて同定された。しかし、*Pem* 以外の *postplasmic/PEM* RNAs の生殖細胞系列の形成における機能は殆ど知られていない。申請者はマボヤ胚の生殖細胞系列での転写制御機構を解明することを大きな目的とし、Pem を中心とした生殖細胞系列での転写制御機能の研究を行った。学位論文は三部構成になっており、第一部では、生殖細胞系列の転写抑制に寄与する Pem 以外の因子を発見したこと、第二部では、生殖細胞形成に必要な遺伝子の発現（胚性発現）のマーカー遺伝子を同定したこと、第三部では、そのマーカー遺伝子の胚性発現の開始機構について解析したことをそれぞれ報告している。

申請者はまず、生殖細胞系列の転写抑制に寄与する Pem 以外の因子を探索した。*postplasmic/PEM* RNAs の一つ *Popk-1* を機能阻害した結果、16 細胞期胚の生殖細胞系列で体細胞遺伝子の異所的な発現が観察された。即ち、Popk-1 は生殖細胞系列における転写抑制に関与していることを示した。先行研究から、Popk-1 は Pem の翻訳の場である CAB の形成を制御するということが知られていた。申請者は、Popk-1 は CAB の形成を制御することを介して Pem タンパク質量を制御し、間接的に生殖細胞系列の細胞での転写を抑制することを予想した。その結果、Popk-1 機能阻害胚では、転写抑制に必要な核に移行する Pem タンパク質の量が減少すること、Popk-1 機能阻害と Pem 過剰発現を同時に行った胚においては、体細胞系列の異所的な発現が消失することを発見した。以上から、Popk-1 は CAB の形成を介して Pem タンパク質の発現量を制御することで、転写抑制をしていることが示唆された。

次に、グローバルな転写抑制後、生殖細胞形成における胚性発現の開始機構を調べた。まず、生殖細胞系列の胚性発現マーカー遺伝子として *Clone 45* (*ADP/ATP translocase*)を同定し、110 細胞期～初期原腸胚期の間から発現が開始することを示した。申請者は Pem タンパク質が減少する事で転写抑制が解除され、胚性発現が開始すると予想し、解析を行った。結果、Pem の過剰発現胚では *Clone 45* の発現が減少し、Pem 機能阻害胚では *Clone 45* の発現開始時期が早まった。即ち、Pem が減少することにより、*Clone 45* の胚性発現が開始することが示唆された。

最後に、胚性発現を制御する遺伝子の探索を行ったところ、*postplasmic/PEM* RNAs の一つ *Zf-1* の機能阻害胚では生殖細胞系列の細胞で *Clone 45* の発現が減少することがわかった。また、Pem タンパク質が殆ど観察されない時期である 64 細胞期で、Zf-1 機能阻害胚では生殖細胞系列の細胞の核に Pem タンパク質局在が観察され、Zf-1 と Pem を同時に機能阻害した胚においては、*Clone 45* の発現が回復することがわかった。以上から、Zf-1 が Pem タンパク質を減少させることにより胚性発現が開始することが示唆された。

本論文から、Popk-1 と Zf-1 が Pem タンパク質レベルをそれぞれ正/負に制御し、生殖細胞系列において適切な転写制御が行われることが示唆され、同系列の転写制御機構の全体像の理解が進んだ。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値のあるものと認める。