

氏 名 林 良樹

学位（専攻分野） 博士（理学）

学 位 記 番 号 総研大甲第 811 号

学位授与の日付 平成 16 年 9 月 30 日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻
学位規則第 6 条第 1 項該当

学 位 論 文 題 目 ショウジョウバエ生殖系列形成過程における母性 Nanos タンパク質の役割

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 長濱 嘉孝
教授 上野 直人
教授 相賀 裕美子

論文内容の要旨

生殖細胞は有性生殖の過程を経て次世代を形成しうる唯一の細胞であり、生命の連続性を担っている。多くの動物種において、生殖質と呼ばれる特殊な細胞質を取り込む細胞が、生殖細胞に分化することが明らかになっている。生殖質中には、生殖細胞の形成に必要な十分な母性因子が局在していることが知られており、これら因子を同定し、その機能解析を行うことにより生殖細胞形成機構が明らかになると考えられる。生殖質が観察される動物種のなかで、ショウジョウバエは実験発生学的手法や遺伝学的手法を駆使した解析が容易であるため、生殖細胞形成機構を解析する上で良い実験材料の一つである。

ショウジョウバエの生殖質は、胚の後極に局在しており、それを取り込む形で極細胞が形成される。極細胞は、胚発生の進行とともに胚内を移動し、生殖巣にとりこまれ、成虫の生殖巣中で卵や精子である生殖細胞に分化する。初期胚発生過程において、極細胞中では体細胞性遺伝子 (somatic genes) の転写が抑制されていることが知られている。この転写抑制に関わる因子の一つとして、Nanos (Nos) が同定されている。母性 Nos タンパク質は生殖質に分布し、極細胞に取り込まれる。極細胞中において、母性 Nos タンパク質は、体細胞性遺伝子の転写因子の核移行を妨げることにより、それら遺伝子の転写を抑制している。このことは、母性 Nos タンパク質が、極細胞の体細胞への分化を抑制していることを予想させる。本研究では、この点を明らかにするために母性 Nos タンパク質を欠いた極細胞 (*nos* 極細胞) の発生運命を詳細に解析し、以下の諸点を明らかにした。

- 1) 母性 Nos タンパク質を欠く胚 (*nos* 突然変異胚) において、胚発生の進行に伴い極細胞数が減少することを見いだした。また、この極細胞はアポトーシスを起こしていることも明らかにした。母性 Nos タンパク質と協同して働くことが知られている母性 Pumilio (Pum) タンパク質を欠く胚 (*pum* 突然変異胚) においても極細胞数の減少、および極細胞におけるアポトーシスの誘導が、*nos* 突然変異胚と同様に観察された。これらの結果より、Nos タンパク質は Pum タンパク質と協同して極細胞のアポトーシスを抑制することにより極細胞の維持をおこなっていることが明らかになった。
- 2) *nos* 極細胞が体細胞に分化することができるか否かを明らかにするために、*nos* 極細胞のアポトーシスを抑制することを試みた。第三染色体の H99 と呼ばれる染色体領域に含まれる *reaper (rpr)*、*head involution defective (hid)*、*grim* 遺伝子がアポトーシスに関わることが知られている (White et al., 1994; Grether et al., 1995; Chen et al., 1996)。H99 領域の欠失突然変異によって、*nos* 極細胞のアポトーシスが抑制されることを見いだした。そこで、H99 欠失突然変異によりアポトーシスを阻害した *nos* 極細胞 (*nos-H99* 極細胞) の発生運命を解析した結果、一部の *nos-H99* 極細胞が体細胞組織に取り込まれていることが明らかになった。このような *nos-H99* 極細胞は、取り込まれた体細胞組織の細胞と同様の形態をとっていた。さらに、そのような *nos-H99* 極細胞は取り込まれた体細胞組織の分化マーカーを発現しており、反対に生殖系列のマーカーである Vasa (Vas) タンパク質を失っていた。以上の結果より、*nos-H99* 極細胞は体細胞へ分化する能力を持つことが明らかとなった。
- 3) 上記の研究の過程で、一部の *nos-H99* 極細胞は、生殖巣に取り込まれることも明らかになった。*nos* 極細胞は生殖巣に移動する能力を完全に失っていることが知られていたが、この異常は極細胞がアポトーシスするために引き起こされると結論できる。さらに、生殖巣へ移動した *nos-H99* 極細胞の発生を観察した結果、*nos-H99* 極細胞は機能的な生殖細胞に分化することができなかった。このことは、生殖巣中で極細胞が生殖細胞へ分化する過程にも母性 Nos タンパク質が関与することを示唆している。

本研究により、極細胞は、生殖巣に移動し生殖細胞に分化する能力に加え、アポトーシスにより細胞死をおこす能力、さらに体細胞に分化する能力を持つことが明らかとなった。母性 Nos タンパク質は、アポトーシスや体細胞分化の経路を抑制することにより、極細胞を正常に生殖巣へと移動させ、生殖細胞まで分化させる機能をもつと結論できる。

審査結果の要旨

多くの動物の生殖質中には、体細胞分化を抑制し、生殖細胞に分化するように発生運命を局限する母性因子が局在すると考えられてきた。ショウジョウバエの生殖質に局在する母性因子である Nanos (Nos) タンパク質は、極細胞（予定始原生殖細胞）中において体細胞性遺伝子の転写を抑制することが明らかになっていた。申請者は、母性 Nos タンパク質が極細胞の体細胞分化を抑制する機能を持つと予想し、この点を明らかにするために母性 Nos タンパク質を欠いた極細胞（*nos* 極細胞）の発生運命を詳細に解析し、以下の諸点を明らかにした。第一に、Nos タンパク質は極細胞のアポトーシスを抑制することにより極細胞の維持をおこなっていることを明らかにした。第二に、アポトーシスに関わる *reaper* (*rpr*)、*head involution defective* (*hid*)、*grim* 遺伝子を含む第三染色体の H99 と呼ばれる染色体領域の欠失突然変異によって、*nos* 極細胞のアポトーシスが抑制されることを見いだした。そこで、H99 欠失突然変異によりアポトーシスを阻害した *nos* 極細胞（*nos-H99* 極細胞）の発生運命を解析した結果、一部の *nos-H99* 極細胞が体細胞に分化することを示した。第三に、上記の研究の過程で、一部の *nos-H99* 極細胞は、生殖巣に取り込まれることも明らかになった。*nos* 極細胞は生殖巣に移動する能力を完全に失っていることが知られていたが、この異常は極細胞がアポトーシスするために引き起こされると結論できる。本研究により、極細胞は、生殖巣に移動し生殖細胞に分化する能力に加え、アポトーシスをおこす能力、さらに体細胞に分化する能力を持つことがはじめて明らかとなった。母性 Nos タンパク質は、アポトーシスや体細胞分化の経路を抑制することにより、極細胞を正常に生殖巣へと移動させ、生殖細胞まで分化させる機能をもつと結論できる。

本研究は、母性 Nos タンパク質による極細胞の運命決定機構を明らかにした重要な研究であり、動物の生殖細胞決定メカニズム解明に大きく貢献するものである。したがって、学位授与にふさわしいと判断した。

本研究は、ショウジョウバエの生殖細胞形成過程における極細胞の運命決定機構を明らかにした研究であり、極細胞が種々の体細胞に分化できる能力を潜在的に持つことをはじめて明らかにした点、また Nos タンパク質が体細胞分化を抑制することにより、極細胞の運命決定を行っていることを明らかにした点において高く評価される。本学位論文は日本語によるものであるが、国際誌に本研究の一部を掲載した論文が受理されていることから、本申請者の英語能力は学位授与にふさわしいと判断した。また、審査会での質疑において申請者は的確に応答したことから、関連分野についても十分な知識を有し考察能力も優れており、学位授与にふさわしいと判断した。