

論文の内容の要旨

論文題目 マウス卵減数分裂に関与する因子の同定とその制御機構・機能の解明

氏 名 鈴木 元

減数分裂は配偶子形成の為に行われる特徴的な細胞分裂機構であり、体細胞分裂とは異なる特徴的な性質を数多く有している。またその機構においては染色体の組換えがおこることで生物多様性がもたらされるなど、生命にとって非常に重要な意義を持った現象であることから、これまでに多くの研究が報告されてきた。しかしながらその一方で未だに詳細が明らかとされていない点も数多く残されている。そこで、本研究では減数分裂が起こる時期の転写活性を持たない卵細胞内に安定的に蓄積された母性 mRNA の中から減数分裂に関与する新たな因子を同定し、その発現制御機構および機能についての解析を行うことを目的として研究を行った。

第1章では減数分裂に関与するたんぱく質をコードした母性 mRNA が持つと予想される遺伝子発現における特徴に着目し、本研究室において行われた成熟卵及び1細胞期胚における RNA-sequence データを用いた候補遺伝子の絞り込みを行った。卵形成期に行われ受精後ただちに終了する減数分裂に関与する因子をコードする母性 mRNA は (1)体細胞分裂が開始される1細胞期に速やかに分解される (2)卵特異的に発現する の2つの特徴を有していることが予想された。そこでこの基準に沿って候補遺伝子の絞り込みを行った結果、最終的に卵特異的に発現する4つの遺伝子を得る事ができた。さらにそのうちの2つ、*Fbxw13*と*Fbxw18*はアミノ酸配列のよく似た13個の遺伝子とともに第9染色体上にクラスターを形成している遺伝子であった。そこでこのクラスターに属する全15遺伝子の組織、卵及び初期胚における発現パターンを解析した結果、全ての遺伝子が卵において高発現し、その mRNA は受精後速やかに分解されている事が明らかとなった。そこで、このクラスターに属する遺伝子を本研究の解析対象とすることとした。

第2章においては *Fbxw* クラスターが卵において発現する機構を明らかにするために、クラスターに属する遺伝子のひとつである *Fbxw12* をモデルとして成長期卵および2細胞期胚において reporter gene assay を行った。その結果、*Fbxw12* 遺伝子の転写開始点上流 1 Kb の領域は成長期卵でのみ転写活性を持つことが明らかとなった。さらに *Fbxw* クラスター遺伝子の発現に働く配列を特定するため、クラスターに属する全遺伝子の転写開始点上流配列における転写因子結合配列予測を行った結果、クラスターに属するすべての遺伝子が AML-1、HSF-1/2 と PBX-1 の結合配列もしくはその 2 塩基以内の変異を含む配列を共通して持つ事が明らかとなり、さらにその

変異導入実験より HSF-1/-2、PBX-1 結合配列が *Fbxw12* の卵における転写活性に重要であることを明らかとした。また強制発現実験の結果、*Fbxw12* の卵における転写には *Hsf-2* と *Pbx-1* が重要であることが示唆された。

最後の第 3 章では *Fbxw* クラスター遺伝子が持つ機能について解析を行った。相同性の高いアミノ酸配列を持つ *Fbxw* クラスター全遺伝子を標的とする siRNA を設計し、成長期卵に顕微注入した後に 12 日間体外で培養する事で、卵形成期における *Fbxw* クラスター遺伝子の同時発現抑制を行った。その結果 *Fbxw* クラスター遺伝子の発現を抑制した卵において卵核胞崩壊は正常に起こり、その後の紡錘体形成にも異常が見られなかったものの、それに引き続いておこる第一極体の放出が見られない事が明らかになった。そこでこの原因を明らかにするために減数分裂の進行に重要な MPF の活性制御に着目して解析を行った。その結果、*Fbxw* クラスター遺伝子の発現を抑制した卵においては、第一減数分裂進行時における MPF 活性の上昇は正常に起こるものの、第一極体放出に必要な MPF 活性の低下が起こらないことが明らかとなった。これらの結果より *Fbxw* クラスター遺伝子の発現を抑制した卵母細胞中では CYCLIN B の分解による MPF 不活性化が起こらず、MPF 活性制御異常が生じている可能性が示された。

以上の結果より、本研究では卵特異的に発現、機能する遺伝子の探索を目的として新しい着想による候補遺伝子の探索を行い、複数の卵特異的因子を同定する事に成功した。また得られた候補遺伝子のうち今回解析の対象とした *Fbxw* 遺伝子について、その発現制御機構と減数分裂における機能を示唆する結果を得ることができた。本研究は減数分裂で機能する遺伝子探索の新たなモデルケースであると同時に、これまで卵特異的クラスターである事が示唆されながらその実体が長年に渡り明らかにされてこなかった *Fbxw* クラスター遺伝子について新たな知見を与えた研究である。