

氏名	梶田 晋平
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第4979号
学位授与の日付	平成26年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	マウスの配偶子形成に関与する遺伝子の機能に関する研究
論文審査委員	教授 国枝 哲夫 准教授 辻 岳人 教授 舟橋 弘晃

学位論文内容の要旨

精子や卵子といった配偶子の形成は生命の連続性に必須の現象であり、かつ減数分裂という特異的な細胞分裂過程を経る。配偶子形成機構の理解は、ヒトにおける不妊治療だけでなく、生産動物の効率的な交配、外来および有害動物の駆除など、広く動物の生殖をコントロールする方法の開発への応用が期待される重要な研究課題である。これらのことから、遺伝的に不妊を呈する *skt* および *repro23* の2系統の突然変異マウスに焦点を当て、それら突然変異マウスに関与する遺伝子の機能の解明を試みた。

skt マウスは、核膜孔複合体構成因子の一つである TMEM48 の遺伝子上に突然変異を生じており、雄においては相同染色体の対合に異常を生じることで精子形成がパキテン期以降に進行しない。そこで、相同染色体の対合異常の原因を調べるため、精母細胞における染色体の移動と配置および核の形態の解析を行った。その結果、減数分裂過程において重要であるとされている特殊な染色体の配置は *skt* マウスにおいても観察され、テロメアを指標とした染色体の移動と配置に顕著な異常は観察されなかった。一方 *skt* マウスの精母細胞における核の形態を観察したところ、対合異常が観察されるのと同時期のパキテン期精母細胞において異常な形態の核を示す細胞の割合が有意に上昇していた。これらの結果から、*skt* マウスではパキテン期において核の形態に異常が生じることで対合異常が引き起こされ、精子形成が停止している可能性が示唆された。

skt 雌マウスの不妊の原因解明を試みた結果、*skt* マウスでは2細胞形成率が正常個体と比較して有意に低下していることが明らかとなった。また、2細胞期以降への胚発生は全く観察されず、排卵された卵母細胞に正常な発生能がないことが確認された。また、排卵された卵子を観察したところ、本来第2分裂中期であるはずの卵母細胞の中に第1分裂終期を示す細胞が観察された。また分裂中期の細胞を観察したところ、紡錘体極に存在する微小管形成中心 (MTOCs) の局在に異常が生じていることが明らかとされた。これらの結果から、TMEM48 が MTOCs の局在または安定化に重要な役割を担っており、かつ MTOCs の紡錘体極への局在が減数分裂の完了および初期胚における卵割に重要である可能性が示唆された。

次に精巣において TMEM48 と結合し、精子形成に重要な役割を果たしている遺伝子の同定を試みた。酵母ツーハイブリッド法を用いスクリーニングを行った結果、合計で31個の遺伝子が TMEM48 と精巣において相互作用する可能性のあるタンパク質の遺伝子として同定された。

repro23 マウスは、*Tdrd12* 遺伝子に突然変異を持ち、精子形成が減数分裂前期の早い時期に停止する。この *Tdrd12* の機能を解明するため、*Tdrd12* の精子形成過程における発現時期および局在を確認した。その結果 *Tdrd12* には2種類の転写物が存在し、短鎖のものは生後間もない精巣で既に発現しており、長鎖のものは生後12日齢より発現が確認された。タンパク質の発現時期についても mRNA の発現時期と同様の結果が得られた。さらにタンパク質の局在を観察したところ、精母細胞の核内に比較的強いシグナルを確認し、減数分裂の進行に伴い特徴的な局在変化を示した。このことから、*Tdrd12* が胎児期だけでなく、減数分裂の進行過程においても重要な機能を有している可能性が示唆された。

以上、本研究では配偶子形成に異常を呈する *skt* および *repro23* マウスの表現型とその原因遺伝子の機能を解析することで、これらの遺伝子のほ乳類の配偶子形成に関与する新たな機能を明らかとした。

論文審査結果の要旨

本研究は、配偶子形成に異常を呈することで不妊となる *sks* および *repro23* 突然変異マウスを用いて配偶子形成と減数分裂に関わるに *Tmem48* および *Tdrd12* 遺伝子の機能の解明を試みたものであり、その主な結果は以下の通りである。

まず、核膜孔複合体構成因子の一つである *Tmem48* 遺伝子の突然変異により、雄において相同染色体の対合異常により精子形成が停止する *sks* マウスでは、減数分裂第一分裂前期の精母細胞に異常な形態を示す核が出現することを見出し、そのことから、*Tmem48* 遺伝子は核の形態維持に重要な役割を持ち、*sks* マウスでは *Tmem48* 遺伝子の欠損により核の形態に異常が生じることで、減数分裂における相同染色体の対合異常が引き起こされ、精子形成が停止している可能性を明らかにしている。

次に *sks* 雌マウスの不妊の原因解明を試みた結果、*sks* マウスに由来する胚では2-細胞形成率が低下し、さらに2-細胞期以降への発生は全く観察されず、胚に正常な発生能がないことを見出している。また、減数分裂中期の紡錘体極に存在する微小管形成中心の局在に異常が生じていることから、**TMEM48** が微小管形成中心の局在または安定化に重要な役割を担っている可能性を明らかにしている。

さらに、酵母ツーハイブリッド法により精巣において **TMEM48** を結合する遺伝子の同定を試みた結果、31個の遺伝子を **TMEM48** と相互作用する可能性のあるタンパク質の遺伝子として同定している。

最後に、精子形成が減数分裂前期の早い時期に停止する *repro23* マウスの原因遺伝子である、*Tdrd12* の精子形成過程における発現時期および局在を調べている。その結果 *Tdrd12* には2種類の転写物が存在し、短鎖は生後間もない精巣より発現し、長鎖は生後12日齢より発現することを見出している。さらに本タンパク質は、精母細胞の核内に存在し、減数分裂の進行に伴い特徴的な局在変化を示すことから、*Tdrd12* が、減数分裂の進行過程において重要な機能を有している可能性を明らかにしている。

以上の本研究の結果は、マウスの配偶子形成と減数分裂における *Tmem48* および *Tdrd12* 遺伝子の機能を明らかにしたものであり、ほ乳類の生殖細胞分化と配偶子形成の分子メカニズムを解明する上で重要な知見であると考えられ、当該研究分野の研究に及ぼす影響は大きく、それゆえ、梶田晋平氏は自然科学研究科の博士(学術)の学位を受ける資格があるものと判定した。