

論文内容の要旨

申請者氏名 橋本 祥子

動物の体をかたちづくる多種多様な細胞種の中で、次世代に受け継がれる唯一のものが生殖細胞である。生殖細胞は胚発生過程の極めて早い時期に運命づけられるが、その決定様式には、受精卵に局在する決定因子群（生殖質）が必須である場合と、局在因子に依らずむしろ誘導現象による場合の2つに大別できる。こうした決定様式の違いが知られている一方で、生殖系列特異的に発現する遺伝子の多くは種間で共通しており、生殖細胞の運命決定にはなんらかの共通するメカニズムがあると思われる。本研究は、ゼブラフィッシュ胚における生殖細胞の決定様式について検証し、また、生殖細胞形成に関与する分子を解析することにより、生殖細胞の形成機構を解明しようとするものである。

ゼブラフィッシュ胚では、初期胚において卵割面両端に生殖系列特異的な母性 mRNA が局在することが知られており、この部位が生殖質ではないかと考えられていた。このことを検証するため、本研究では、ゼブラフィッシュの初期胚から細胞質を物理的に除去し、以下の結果を得た。1) 4細胞期胚の第一、第二卵割面両端4カ所の細胞質を除去すると、生殖細胞形成が阻害された。2) 4細胞期胚で4カ所ある卵割面両端のうち2カ所から細胞質を除去すると、生殖細胞前駆細胞の数が減少した。3) 2細胞期胚において第一卵割面両端2カ所の細胞質を除去しても生殖細胞形成は阻害されなかった。これらの結果から、ゼブラフィッシュの初期胚から細胞質を物理的に除去することにより、ゼブラフィッシュ4細胞期胚において卵割面両端の細胞質は生殖質であり、しかも4カ所はそれぞれが独立に生殖細胞形成に寄与すること、またこの運命決定能は4細胞期において確立されることが明らかにした。次に、ゼブラフィッシュ胚の生殖細胞形成における分子メカニズムを解明するため、卵割面両端に局在する新規因子の探索を行った。その結果、RNA 結合蛋白質をコードする *zDazl* および *brul* 遺伝子の母性 mRNA が、4細胞期胚の卵割面両端の4カ所に局在することを明らかとした。この部位にその産物が局在する遺伝子は、これまで知られていたものを含め、すべて RNA 結合性タンパク質をコードしており、生殖細胞の運命決定において RNA の制御を介したメカニズムの存在が示唆される。卵割面両端に局在するタンパク質はこれまで報告がなかったが、*brul* の mRNA のみならずタンパク質も卵割面両端に局在することを見出し、*brul* 遺伝子が生殖細胞形成に深く関わると考えられた。

本研究では、ゼブラフィッシュの生殖細胞の運命決定が母性局在因子によってなされていることを示し、さらに、実際にそのような因子の有力な候補のひとつとして *Brul* タンパク質を同定した。これらの知見は、魚類における生殖細胞形成機構を解明する上で、ひいては脊椎動物において広く保存されているであろう生命の連続性を支える基本的な原理をひもとく上で大きな手がかりとなるであろう。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 橋本 祥子

生殖細胞の細胞運命の決定は、二つの側面がある。すなわち、多細胞生物の（恐らくは最も重要な）細胞分化という側面と、生殖細胞自身の持つ特殊性の獲得という側面である。本研究では前者に焦点を当て、特に多くの生物種で観察される母性効果因子の機能に着目して、生殖細胞におけるその役割を明らかにしたものである。

研究要旨にもある通り、生殖細胞は胚発生過程の早い時期に分化し、母性効果因子（生殖細胞決定因子）の局在により生殖細胞の分化・決定が行われる場合と、母性効果因子ではなく細胞間相互作用に依る場合とがある。ゼブラフィッシュは前者であり、本研究ではゼブラフィッシュの初期胚から細胞質を物理的に除去することにより、母性局在因子が生殖細胞において必須であることを示した。一連の実験で用いられた実験方法は熟練を要する組織学的手技と、分子生物学に基づいた実験生物学的手法であるが、結果の明確さ・技術の高さには疑問の余地がなく、申請者がこれらの修得のために研鑽を積んだことは想像に難くない。また、魚類においてその生殖細胞の決定様式を初めて明らかにしたことの意義は極めて高く、基礎研究のみならず、産業上の応用にも多大な貢献が期待される。

本研究のもう一つの主要な結果として、生殖細胞の決定に寄与すると考えられる母性局在因子の探索が挙げられる。これまでに報告されている、ゼブラフィッシュの生殖細胞決定に与る母性局在因子群の候補は全て RNA 結合タンパク質の mRNA であり、RNA レベルの遺伝子発現制御が重要な役割を果たしている可能性が指摘されていた。本研究でも母性局在 RNA として、*zDazl* および *brul* 遺伝子の mRNA を同定しており、これまでの知見を強化するものとなっている。特筆すべきは *brul* 遺伝子の遺伝子産物である Brul タンパク質が、卵割初期の非常に早い発生段階において発現しており、決定因子が存在すると考えられる卵割面に局在することを明らかにしたことである。脊椎動物の生殖細胞決定因子は未だ不明であり、実際にどのような分子がどのようなメカニズムで生殖細胞の運命を決めているのかについては全くわかっていない。本研究の結果は、少なくともゼブラフィッシュにおいて Brul タンパク質が決定因子に非常に近い位置にあることを強く示唆するものであり、生殖細胞決定機構の理解に大きく寄与するものであるといえる。

以上のように、本研究は申請者の独創的なアイデアと確かな実験技術に基づいて行われたものであり、申請者は学位にふさわしい資質を備えていると判断する。また、博士論文の完成度も高く、非常に興味深い考察が行われていたことも付け加えておきたい。これらのことを鑑みて、審査委員一同は本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。