

氏名(国籍)	庄 <small>しょう</small> 天 <small>てん</small> 罡 <small>がん</small> (中国)
学位の種類	博士(農学)
学位記番号	博甲第3355号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	Identification and Characterization of a Testis-specific Cytoplasmic Poly (A) Polymerase, TPAP (精巣特異的細胞質ポリ(A)ポリメラーゼの同定と機能解析)
主査	筑波大学教授 農学博士 馬場 忠
副査	筑波大学教授 農学博士 深水 昭吉
副査	筑波大学教授 農学博士 小林 達彦
副査	筑波大学教授 理学博士 藤村 達人

論文の内容の要旨

真核生物 mRNA の 3' 末端に存在するポリ A 鎖は、mRNA の核から細胞質への移行、安定性、および翻訳効率に関与している。したがって、ポリ A 鎖長の調節は遺伝子発現を制御する転写後修飾のひとつである。ポリ A 鎖付加は通常核内で行われるが、動物の卵子成熟過程や初期発生では、母性 mRNA の細胞質でのポリ A 鎖伸長による翻訳活性化が遺伝子発現を制御する上で中心的な役割を果たしている。また、精子形成はきわめて特殊化した分化過程であり、この過程における遺伝子発現は転写、転写後、および翻訳レベルで厳密に制御されている。

本研究では、哺乳動物雄性生殖細胞の細胞質特異的に存在する新規ポリ A ポリメラーゼ TPAP の同定と、その遺伝子改変マウスを用いた機能の解析を行っている。まず、精子形成過程の球状精細胞で複数の mRNA のポリ A 鎖がその前段階のパキテン期精母細胞とくらべて 100 塩基ほど伸長していることを見いだした。そこで、ポリ A 鎖付加酵素であるポリ A ポリメラーゼ (PAP) に着目し、雄性生殖細胞特異的に発現する分子種を探索した結果、これまで知られていた PAP とは別の遺伝子に由来する新規酵素 TPAP の同定に成功した。642 アミノ酸残基よりなる TPAP は、核で構成的なポリ A 鎖伸長を触媒する PAP II と 86% の相同性を有していた。PAP II にある 3 個の活性残基アスパラギン酸や ATP 結合領域、および RNA 結合領域は TPAP に含まれていたが、核移行シグナルが存在する PAP II の C 末端側約 100 残基を欠失していた。また、抗 TPAP 抗体を用いて精巣抽出液のウェスタンブロット分析や組織免疫染色を行い、TPAP が細胞質に局在することを明らかにした。

TPAP 欠損マウスでは、精子核や鞭毛などの形態形成にかかわる半数体特異的遺伝子の転写が著しく減少しており、その結果として精子形成が球状精細胞の段階で停止する。また、TPAP は転写因子 TAF10 や TRF2 など特定 mRNA の球状精細胞特異的なポリ A 鎖伸長に関与していることが明らかにされている。そこで、TPAP の過剰発現の影響を調べるために、TPAP 遺伝子とそのプロモーターの支配下に精巣で過剰発現するようなトランスジェニックマウスを作製した。それらの精子形成は正常であり、TPAP 標的 mRNA のポリ A 鎖長は野生型と同じであることが明らかになった。また、TPAP 欠損マウスと TPAP 過剰発現マウ

スを交配させて得られたオスの産仔では、TPAP 標的 mRNA のポリ A 鎖長や半数体特異的遺伝子の発現量は野生型と同レベルにまで回復し、精子形成も正常に進行することを確認した。

審 査 の 結 果 の 要 旨

哺乳動物の精子形成は非常に複雑な分化過程であり、その分子機構についての研究は未だに解明されていない。本研究では、精子形成過程における時期特異的な特定 mRNA のポリ A 鎖伸長に関与する因子の同定とその機能についての解析を試みている。その結果、新規ポリ A 鎖付加酵素である TPAP を同定することに成功し、遺伝子改変マウスを用いてその機能を明確にしている。また、転写後レベルでの新規遺伝子発現制御機構が示唆されている。

細胞質での mRNA ポリ A 鎖伸長はこれまで卵形成や初期発生でしか知られていなかったが、この転写後修飾反応が精子形成でも存在していることを明らかにし、その機能について検討した点は十分に評価できる。ところが、ポリ A 鎖伸長機構や TPAP 機能の分子基盤を明確にするまでには至っておらず、今後に残された課題も少なからずある。しかし、研究自体は非常に注意深く行われており、十分な信頼性を有しており、当該研究分野の発展に貢献したと判断できる。

よって、著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。