

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 菊地 真理子

論 文 題 目 メダカにおける生殖細胞自律的な性決定機構の解明

### 論文審査担当者

主 査 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 理学博士 田中 実

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 理学博士 大隅 圭太

委 員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 博士(農学) 松林 嘉克

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

多くの動物のメスは卵を作りオスは精子を作る。しかし卵や精子の元となる生殖細胞はメスにあってもオスにあっても両方になれる能力を持つ。*foxl3* は生殖細胞の性、すなわち卵になるか精子になるかを決定するスイッチ遺伝子だと所属研究室で明らかにされた。しかしながらこのスイッチが入るとどのようにして生殖細胞が卵あるいは精子へと性分化を始めるのか、その分子機構はまったくあきらかでなかった。

主論文では *foxl3* 遺伝子下流の実行部隊の遺伝子を 2 つ (*fbxo47* と *rec8a*) を同定し、生殖細胞が卵になる過程で働く分子経路 4 つを具体的に明らかにした。この 2 つの遺伝子同定のために、まず *foxl3* 遺伝子 ON の生殖細胞 (卵になる) が蛍光で識別できるメダカを作製し、そこからセルソーターで少量の *foxl3* 遺伝子が ON と OFF 細胞を分取した。次にそれらの細胞における発現遺伝子の差を次世代シーケンサーとインフォマティクスを駆使して網羅的に探索することにより候補遺伝子を得た。さらに変異体での遺伝子発現解析や ChIP 法などにより候補遺伝子を検定し、最終的に *fbxo47* と *rec8a* が *foxl3* 遺伝子下流の実行部隊であることを示した。ここまでの研究成果は国際誌 *Developmental Biology* に発表された (副論文)。

申請者はつぎに *fbxo47* と *rec8a* の変異体を作製し、*foxl3* 遺伝子の機能を裏付ける表現型を得た。そして哺乳類で個別に解析されてきた卵形成に重要な遺伝子 (*lhx8b*, *figla*, *nobox*) との関係性を調べた。そのために新たに *lhx8b* 遺伝子と *nobox* 遺伝子の変異体を作製し、これら 4 つの変異体での遺伝子発現を相互に調べた。その結果これらの遺伝子の遺伝学的上下関係を明らかになり、*foxl3* 遺伝子下流では卵特有の減数分裂制御、濾胞形成、濾胞発達の経路が独立して働き出すことが判明した。同時に *foxl3* 遺伝子下流にはなく、しかし卵特有の経路が存在することも明らかとなった。驚くべきことに *lhx8b* と *figla* の変異体では卵巣内で精子が見出されたことから、濾胞形成の経路は同時に精子形成を抑制していることも明らかとなった。

以上の研究は、生殖細胞の性のスイッチ遺伝子、*foxl3* 遺伝子、下流での実行部隊遺伝子を初めて同定しただけでなく、*foxl3* 遺伝子下流で卵へと分化させる経路が複数制御されていることを示し、その経路が精子形成を抑制していることまでを明らかにしたものであり、生殖生物学や発生学に大きな知見を加えるものである。よって申請者は博士 (理学) の学位を授与されるに十分な資格があるものと認められる。