

【目的】 卵子は次世代個体発生を担保する生命継承の担い手であり、その形成機構の異常は不妊や先天異常の原因となる。卵子は、発生初期に形成される始原生殖細胞を起源とし、減数分裂による新たな遺伝的組み合わせの創出、母性エピゲノムの獲得、母性因子の蓄積を介して全能性を賦与する細胞形質を獲得する。卵形成を構成するこれらのプロセスがどのように連動して制御され、全能性をもたらす機能的な卵子の産生へとつながるかは理解されていない。本研究の目的は胎生期から始まる卵特異的な転写ネットワークがどのように段階的に構築されていくかを理解し、全能性を賦与する細胞形質の構築機序を解明することである。

【方法】 研究代表者はこれまでに、多能性幹細胞を起点とした生殖細胞の試験管内誘導系を活用し、始原生殖細胞から卵母細胞を誘導するシグナル・転写制御機構の解明に成功し、雌性性決定因子である ZGLP1 を同定した。本研究では、マウス卵母細胞の試験管内誘導系を活用して、ZGLP1 によって早期に活性化される転写因子群の機能解析を行い、胎生期から始まる卵形成転写ネットワークの構築機序解明を目指した。

【結果】 はじめに、ZGLP1 の遺伝子破壊および強制発現した生殖細胞において網羅的な遺伝子発現解析を行い、ZGLP1 により早期に活性化される遺伝子群を同定した。そして、それら遺伝子群の卵形成各過程における発現動態を調べたところ、(1) 胎生期の卵母細胞のみで一過的に発現のある因子群、(2) 生後、成体においても発現が維持または発現が上昇される因子群の 2 群に大別することができた。これらの因子群の中から卵母細胞における機能が不明な転写因子群に注力し、CRISPR/Cas9 システムを用いて遺伝子欠損 ES 細胞株を樹立した。卵母細胞試験管内誘導系を用いて遺伝子欠損 ES 細胞由来生殖細胞の卵形成における動態を解析したところ、(i) 性決定後の生殖細胞の早期喪失、(ii) 減数分裂進行の異常、(iii) 原始卵胞形成の阻害、(iv) 卵母細胞数の増加、という卵形成の様々な過程を制御する遺伝子群が含まれていることが明らかになった。これは、ZGLP1 による雌性性決定直後から卵形成を構成する複数の機能モジュール (減数分裂期相同組換え形成、細胞周期、品質管理チェックポイント、レトロトランスポゾン制御、卵胞形成、母型エピゲノム構築) が連動して活性化されていることを示唆している。また、二次卵胞の形成までには顕著な表現型を示さない遺伝子もあり、*in vitro* 誘導系を用いた卵形成必須遺伝子スクリーニングの有用性も確認できた。今後、遺伝子変異 ES 細胞を起点とした *in vitro* 卵母細胞誘導系を活用してゲノムワイドな遺伝子発現解析、また、ヒストン修飾の変遷を ChIP-seq により解析し、胎生期から構築される卵特異的な転写ネットワークの構築機序のさらなる解明を目指す。

試験管内再構築系を駆使した生命継承機構の解析

