

学位論文審査の結果の要旨	
氏 名	Most Sumona Akter
審査委員署名	<p>主 査 金田 正弘</p> <p>副 査 木崎 景一郎</p> <p>副 査 中野田 信明</p> <p>副 査 佐下 和彦</p> <p>副 査 永岡 謙太郎</p> <p>* 審査委員が5名を超える場合は、記入欄を追加して作成してください。</p>
題 目	CRISPR/Cas9-mediated functional screening of novel testis-specific genes in mice
審査結果の要旨 (1,000 字程度)	
<p>精子は、精子発生という厳密に制御された複雑なプロセスを経て連続的に産生され、受精によって男性の遺伝情報を子孫に伝える唯一の役割を担っている。精子を作るプロセスに欠陥があると不妊となる。不妊の診断・治療には、その背景にある精子発生の分子メカニズムを理解することが重要であるが、雄性生殖細胞の発生メカニズムはまだ部分的にしか解明されていない。そこで本研究では、哺乳類の精子発生に重要な新規遺伝子を探索することを目的とした。体細胞核移植 (SCNT) による初期化に抵抗性を示す遺伝子群 (SCNT-reprogramming resistant genes, SRRGs) の多くは精巣にのみ発現し、精子形成に必須であることが報告されている。本研究では、機能未知の SRRG も精子形成に重要な役割を担っていると仮定し、複数の機能未知の SRRG について CRISPR/Cas9 システムを用いたマウスモデルでの遺伝子の機能スクリーニングを行った。第1章では、<i>Faim1</i>, <i>Cox8c</i>, <i>Cox7b2</i>, <i>Tuba3b</i> (および <i>Tuba3a</i>), <i>Gm773</i> の5つの SRRG を精子発生に関わる候補遺伝子として選定し、Triple CRISPR 法により個別の KO マウスを作製したところ、<i>Cox7b2</i>, <i>Gm773</i>, <i>Tuba3a/3b</i> KO マウスは精子形成不全を示した。<i>Cox7b2</i> KO マウスでは、精子の運動性が低いために受精障害が見られた。<i>Gm773</i> KO マウスでは、透明帯通過能力が低いために、受精率が 10% 未満にまで低下した。</p>	

さらに, *Tuba3a/3b* KO マウスでは生殖細胞が生後 3 週までに消失することを明らかにした。

第 2 章では, チューブリンファミリー遺伝子の雄性生殖細胞発生における詳細な役割について検討した。第 1 章で解析した α チューブリン *Tuba3* 遺伝子の生殖細胞の生存と分化に対する遺伝子量効果に着目し, *Tuba3a/3b* の 5 つの異なる遺伝子量グループを作製した。その結果, 0% *Tuba3* モデルでは, 生殖細胞が完全に消失した。一方で, 25% *Tuba3* モデルは精原細胞が生存しているものの, 精母細胞に分化しなかった。次に, β チューブリンのなかでも精巣特異的な発現を示す *Tubb4b* に着目し, *Tubb4b* KO マウスを作製した結果, 生後すぐの *Tubb4b* KO マウスの精巣には精原細胞が存在したが, 精母細胞への分化を停止していた。これらの結果は, 雄性生殖細胞特異的な *Tuba3a/3b* と *Tubb4b* が生殖細胞の生存と分化に重要な役割を果たす可能性を示唆している。

以上のように, 第 1 章では, 5 つの SRRG をスクリーニングし, *Cox7b2*, *Gm773*, *Tuba3a/3b* が, マウスの正常な雄性生殖細胞発生に必須であることを示した。第 2 章では, α チューブリン遺伝子 *Tuba3a/3b* が精子発生に対して量的効果を持つこと, さらに, β チューブリン遺伝子 *Tubb4b* が雄性生殖細胞発生に必須であることを示した。これらの遺伝子の精巣特異的な発現パターンは哺乳類で保存されていることから, 他の哺乳類種においても雄性生殖細胞の発生で重要な役割を担っている可能性が示唆された。本研究は, 雄性生殖細胞発生の分子機構を理解するだけでなく, 多くの哺乳類種における不妊の診断や治療につながる知見を提供するものである。以上について, 審査委員全員一致で本論文が東京農工大学大学院農学府共同獣医学専攻の学位論文として十分価値があると認めた。