

| | |
|--------|--|
| ID No. | 2052 |
| 研究課題名 | CCR4-NOT 複合体による精子形成における転写後制御の解析 |
| 研究代表者 | 柳谷 朗子 (沖縄科学技術大学院大学・研究員) |
| 研究組織 | |
| 受入教員 | 小沢 学 (東京大学医科学研究所・准教授) |
| 研究分担者 | 伊川 正人 (東京大学医科学研究所・教授) |
| 研究報告書 | <p>本研究は、mRNAの3'末端に存在するポリA鎖を短縮することによりmRNA分解を制御するCCR4-NOTデアデニラー複合体の精子形成における転写後制御の分子機構を解明することを目的とする。CCR4-NOTデアデニラー複合体の脱アデニル化活性をもつ構成分子であるCNOT7とCNOT8の精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスを用いて、脱アデニル化による転写後制御の精子形成における役割を解析した。</p> <p>精子細胞特異的にCre組換え酵素を発現する<i>Nanos3-cre</i>マウスと交配させることにより、精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスを作製してその生殖能を解析した。精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスの精巣は野生型と比較して約50%の大きさであった。野生型雌マウスとの交配による生殖能力解析から精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損マウスは異常な精子形成を示すが、100%男性不妊ではなく44%のマウスが完全不妊であり、残り66%マウスも不妊ではないが雌マウスを妊娠させる回数と仔マウス数の顕著に減少した。また、精子細胞特異的<i>Cnot8</i>欠損マウスは雌マウスを妊娠させることができるが、妊娠回数と仔マウス数が減少した。現在、さらなる経時的な生殖能力を解析中である。</p> <p>精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損雄マウスと精子細胞特異的<i>Cnot8</i>欠損雄マウスは共に生殖能力が低下しているが男性不妊でないことから、精子細胞特異的<i>Cnot7/Cnot8</i>ダブル欠損マウスを作製し、CCR4-NOT複合体の脱アデニル化活性の破綻が精子形成に与える影響を解析中である。</p> <p>精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損精巣からmRNAを抽出してRNA-seq解析を行い、増減しているmRNA発現量を解析した。その結果、精子形成に必要な遺伝子の異常なmRNA発現が明らかとなった。また、これをRT-qPCR法により解析した。</p> <p>精子細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損精巣のプロテオーム解析を行い、増減している蛋白質量を解析した。その結果、RNA-seq解析によって増減した遺伝子群と共通の遺伝子群と共通しない遺伝子群を同定した。また、発現変動があった遺伝子のmRNAのポリA鎖の長さをPAT法により解析を行った。</p> <p>今後は、Bulk-polyA法といったより生化学的実験を用いてCNOT7とCNOT8による精子形成に必須な転写後制御の分子機構を解明する。</p> <p>セルトリ細胞特異的にCre組換え酵素を発現する<i>Amh-cre</i>マウスと交配させることにより、セルトリ細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスを作製してその生殖能を解析した。セルトリ細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスの精巣は野生型とほぼ同じ大きさと重量であった。また、野生型雌マウスとの交配による生殖能力解析により、セルトリ細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスの生殖能力は正常であった。さらに、セルトリ細胞特異的<i>Cnot7</i>欠損または<i>Cnot8</i>欠損マウスの精巣の組織切片は正常な精子形成を示すことから、CNOT7とCNOT8のセルトリ細胞における生理機能は精子形成に影響を与えないことを明らかにした。以上の結果より、今後は精子細胞特異的<i>Cnot7/Cnot8</i>ダブル欠損マウスに焦点を絞って、CCR4-NOT複合体の脱アデニル化活性の精子形成における機能を解析する。</p> |