2008年度　修士論文要旨

POUクラスV転写因子*Xoct60*の機能ドメインに関する研究

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻西脇研究室　東久保信人

マウスの*oct4*はPOUファミリークラスVに属する転写因子で胚性幹細胞に発現し、細胞の未分化性の維持に関与することが明らかにされている。アフリカツメガエルでは*oct4*のホモログとして*Xoct60*が存在する。本研究で主に扱った*Xoct60*は卵形成期にマターナルに転写され、中期胞胚遷移の動物極側で発現することが知られている。動物極側は中期胞胚遷移まで未分化な状態を保つことで知られている。以上のことから、*Xoct60*はマウスの*oct4*と同様に動物極側の未分化性維持に関与することが予想される。*oct4*は転写活性化因子であるという報告があるので、この場合、*Xoct60*も転写活性化因子として機能する可能性が高い。*Xoct60*はその分子内にPOU 特異的ドメインとPOU ホメオドメインを有し、この領域は*oct4*と高い相同性を示す。しかし、この両ドメインのN末端側とC末端側の配列は相同性が低く、*Xoct60*が*oct4*と同じ作用機序で機能しているのかは不明である。そこで*Xoct60*のこれらのN末端とC末端に存在する分子内ドメインの働きを明らかにし、*Xoct60*の機能を解析することを目的として本研究を行った。

始めに、*Xoct60*が標的因子に対して転写活性因子として働くのか、転写抑制因子として働くのかを調べた。そのために、*Xoct60*の標的遺伝子の転写を促進するVP16（Virus Protein16: 以下、VP）を融合した活性型コンストラクト*VP⊿N⊿CXoct60*、及び標的遺伝子の転写を抑制するEngrailed Repressor（以下、EnR）を融合した抑制型コンストラクト*EnR⊿N⊿CXoct60*を作製し、これらのコンストラクトから合成したmRNAをアフリカツメガエル8細胞期胚の植物極側に注入した。野生型*Xoct60*を用いて同様の注入実験を行うと、原腸陥入異常が生じることが報告されている。*VP⊿N⊿CXoct60*を注入したところ、野生型*Xoct60*を注入した胚と同様の原腸陥入異常が観察された。一方、*EnR⊿N⊿CXoct60*の注入では、顕著な外形の変化は観察されなかった。これらの結果から、*Xoct60*は転写活性型の転写因子であることが示唆された。

次に、*Xoct60*のN末端側及びC末端側の領域の機能を解析するため、N末端側を欠損した*⊿NXoct60*とC末端側を欠損した*⊿CXoct60*のコンストラクトを作製し、受精卵に注入し野生型の*Xoct60*を注入した胚との比較により解析した。*⊿CXoct60*を注入した胚では野生型*Xoct60*を注入した胚と同様、原腸陥入異常に起因する外形変化が見られたのに対し、*⊿NXoct60*を注入した胚では原腸陥入異常は見られなかった。従って、N末端側に*Xoct60*の標的遺伝子発現の制御に関わるドメインが含まれていることが考えられる。