

## 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 中島 耕大

論 文 題 目 ライブイメージングを基盤とした細胞膜接着因子の  
新規解析法の開発と受精因子群の解析

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教授	博士(理学)	田中 実
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	博士(医学)	日比 正彦
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	准教授	農学博士	吉岡 泰
委 員	東京大学大学院理学系研究科	教授	博士(理学)	東山 哲也

## 論文審査の結果の要旨

雌雄配偶子の接着・融合は、受精の中心的な過程であるが、配偶子がどのような機序で接着・融合を遂げるのか未だ不明な点が多い。遺伝学的手法を中心とした必須因子の同定及びその機能解析によって、いくつかの種で接着因子や融合因子といった受精因子群は同定されはじめているが、それらのパートナー分子の存在や、どのような分子間の時空間的相互作用を経て細胞膜の接着や融合が起こるのかは、ほとんど明らかとなっていない。受精の仕組みを理解するためには、さらなる受精因子の同定のみならず、既に同定された分子の作動原理の解明も必要不可欠である。

申請者は、ライブイメージングを基盤とした接着因子を解析する実験系 (Live Imaging-based Adhesion Molecule assay; LIAM assay。以下、LIAM assay と記す) の開発を目指した。そこでまず、Valansi ら (2017) が確立した、動物培養細胞への融合因子導入による細胞融合系に着目し、ライブイメージングによって、細胞融合を可視化した。そして、融合因子の代わりに、細胞間接着を調べるために、コントロールとして E-cadherin を導入した。すると、一時的に細胞が接触すると、接触面に E-cadherin の集積が見られた。このことから、接触面での分子の集積を指標に細胞接着の評価ができると示唆された。

続いて申請者は、配偶子間接着因子ペアの IZUM01・JUNO を導入した。E-cadherin を導入した時と同様、IZUM01 発現細胞と JUNO 発現細胞が接触した時に、接触面で一時的な IZUM01 及び JUNO の集積が検出された。また、集積した IZUM01 及び JUNO は、隣接した各パートナー分子発現細胞へと移行した。続いて、分子の集積や移行が相互作用に重要なアミノ酸によるのかを調べるために、IZUM01-JUNO の共結晶構造解析をもとに、IZUM01 及び JUNO の変異体を作製した。変異体を用いた実験では、分子の集積と移行は、全く観察されなかった。以上の結果より、分子の集積と移行は、IZUM01 と JUNO の相互作用に重要なアミノ酸に依存することがわかった。さらに、LIAM assay を用いて、マウス、ヒト、ハムスター、ブタの IZUM01・JUNO の種特異性を調べた。同種の IZUM01・JUNO の相互作用は、全ての組み合わせで確認されたが、集積や移行の頻度は、種によって異なっていた。また、ハムスター JUNO は様々な種の IZUM01 と相互作用するという例外が確認されるとともに、互換性のある新たな組み合わせが見出された。

申請者の研究の「装置を細胞内で組み上げる構成的なアプローチ」は、あらゆる生物の受精因子の解析に応用可能であり、動植物を広く扱った研究を展開することが可能となる。このため、真核生物の雌雄の配偶子が受精においてどのような分子間の時空間的相互作用により接着・融合が達成されるのかという、基礎生命科学における重要な研究課題に貢献することが期待される。

以上の理由より、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。