

## 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 小田 春佳

論 文 題 目

アフリカツメガエル胞胚の核システムを支える分子基盤の研究

### 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）	大隅 圭太
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	理学博士	本間 道夫
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教授	博士（理学）	五島 剛太

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1-2

多くの動物の胞胚では、細胞分裂が短い間隔で繰り返され、細胞の未分化状態が維持される。無尾両生類アフリカツメガエルでは、胞胚中期まで、分化全能性を維持したまま約 30 分毎に分裂を繰り返し、この間、転写はほとんどなされない。また、細胞核は短時間で大きく成長し、ダイナミックに構築、崩壊を繰り返す。こうした核の構造、機能的特質に対応して、ツメガエル胞胚では、核ラミナや核内膜蛋白質、クロマチン蛋白質の初期胚特異的なサブタイプが発現しているが、それらの生理的な意義も含めて、胞胚期の細胞核の構造、機能的特質を支える分子基盤には不明な点が多い。本論文では、動物胞胚における核の構造的特質を生み出す分子基盤の解明を目的とし、ツメガエルの胚と、胞胚の細胞核の構築を試験管内で再現できる卵抽出液の無細胞系を用いて、胞胚期の核の基本構造を構築する成分を分子細胞学的に解析し、その生理的意義について検討した。

これまで、ツメガエルの卵母細胞の巨大な核には F-アクチンが蓄積し、これが核の構造を支え、染色体の分散を抑制することが明らかにされている。そこで、蛍光タンパク質を融合したアクチン結合タンパク質の mRNA を受精卵に顕微注射し、胞胚および原腸胚の核を観察したところ、胞胚の核にアクチンが蓄積していること、それが原腸胚では消失することが初めて見出された。胚から核を単離して蛍光標識ファロイジンで染色したところ、この核アクチンが F-アクチンであることが確認された。胞胚核の F-アクチンを詳細に解析するため、F-アクチンの細胞内動態を再現し、核の再構築が可能なツメガエル卵抽出液の無細胞系を確立した。この系で核構築を誘起すると、核に F-アクチンが蓄積するのが確認された。この卵抽出液にアクチン重合阻害剤を添加したところ、核形成には影響がなかったが、核が成長するとクロマチンが核から乖離して凝縮したことから、核の F-アクチンは、クロマチンの核膜への結合を維持する役割を果たしていることが判明した。さらに、この無細胞系を用いた解析の結果、核に蓄積する F-アクチンは、核の物理的強度を高め、分裂期における紡錘体上への染色体の整列を促進することも示された。よって、大きな細胞がダイナミックに分裂を繰り返す胞胚においては核の F-アクチンがゲノムの維持に貢献していることが示唆された。

原腸胚期に入ると、上述の様に核には F-アクチンが蓄積しなくなることから、原腸胚期以降は F-アクチン以外のしくみによってクロマチンの核膜への結合が維持されると考えられる。アクチン重合阻害剤を添加した卵抽出液を用いて、クロマチンと核膜の結合を維持する因子を探索した結果、核内膜タンパク質の 1 つ、lamin B receptor (LBR) がその機能を有することが判明した。ツメガエル胚における LBR の発現パターンを調べたところ、胞胚期には非常に低く、原腸胚以降に上昇することが確認された。さらに、卵抽出液に発現させた LBR によって核ラミンの分布にも乱れが生じるのが観察された。これらの結果は、核内膜タンパク質によるクロマチンの核膜への結合維持は、胞胚期の核には適していないことを示し、胞胚期には、原腸胚期以降とは異なる核のシステムが存在することを示唆している。

以上の結果により、申請者は、ツメガエル胞胚における核の構築や構造的特質の制御に、核に蓄積する F-アクチンが重要な役割を果たすことを初めて明らかにした。核に F-アクチンが蓄積する時期は転写が抑制される時期ともよく対応することから、核の F-アクチンは、転写抑制や未分化性の維持など、カエル胞胚における核の機能的特性とも関連する可能性が示唆される。よって、カエル胞胚の核システムを支える分子基盤の解明は、細胞の未分化状態を維持するメカニズムを理解するためにもきわめて重要な役割を果たすものと期待され、本論文の成果は、核における未分化性の維持機構の解明に大きく貢献するものとして高く評価される。以上の理由により、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。