

|          |                               |
|----------|-------------------------------|
| 氏名       | ささくら やすのり<br>笹 倉 靖 徳          |
| 学位(専攻分野) | 博 士 (理 学)                     |
| 学位記番号    | 理 博 第 2503 号                  |
| 学位授与の日付  | 平成 14 年 3 月 25 日              |
| 学位授与の要件  | 学位規則第 4 条第 1 項該当              |
| 研究科・専攻   | 理学研究科生物科学専攻                   |
| 学位論文題目   | ホヤ初期胚に存在する母性 mRNA の分子発生生物学的解析 |

論文調査委員 (主査) 教授 佐藤 矩行 教授 米井 脩治 教授 今福 道夫

### 論 文 内 容 の 要 旨

動物の発生においては、受精卵の細胞質に局在する母性因子が、その後の細胞の分化や形態形成に重要な役割を担うことが知られている。したがって、母性因子が正しく局在するメカニズムを解明することは、発生生物学上の重要な研究課題の一つである。最近になって、ホヤの受精卵及び初期胚の後極に局在する母性 mRNA が数多く単離されている。その局在は非常に明瞭であるが、その分子メカニズムについては不明な点が多い。また、その分子の機能もまた興味をもたれるところである。本論文ではこの2つの問いに答えるべく研究を進めている。

まずマボヤ受精卵 cDNA ライブラリーの網羅的解析プロジェクトに参加し、その研究をとおして、マボヤ初期胚後極に局在する6種類の母性 mRNA の単離に成功した。それらの後極での局在パターンを詳細に調べてみると、最終的局在は酷似しているものの局在に至る過程が異なる2種類の mRNA (type I と type II) が存在することが明らかになった。次に、局在化を保證する細胞骨格系を調べるために、細胞骨格重合阻害剤を使用して実験を行ってみると、これらの mRNA の局在がアクチンフィラメント及び微小管に依存して引き起こされることが判明した。さらに、これらの局在する mRNA が局在しない mRNA とどのように区別されるのかを明らかにするため、mRNA 内の局在に必要な配列の同定を試みた。まず6種類全ての mRNA について、さまざまな deletion constructs を作製して調べてみると、その後極への局在にはその3'非翻訳領域(3'UTR)が必要であり、また十分であることがわかった。さらに、*HrWnt-5*, *HrPOPK-1*, *HrPet-3*については3'UTR内の局在に十分な部分配列を同定した。特に type I mRNA の *HrWnt-5* についてはより詳細な解析を行い、局在に必要な20塩基ほどのウラシル及びグアニンに富む配列の同定に成功した。またその配列内のグアニン残基が局在に必須であることを示した。この配列に似た配列は *HrPOPK-1* の局在配列にも存在することから、type I mRNA 間での局在配列の保存性が示唆される。また type II mRNA の *HrPet-3* については *HrWnt-5* とはまた異なる特徴を持った局在配列をもつことが示された。

またこれらの局在 mRNA の機能発現に関連して、これらの分子が受精後の一定時間までその翻訳が抑制されていると考え、その翻訳抑制について調べてみると、type I mRNA の3'UTRには局在以外に mRNA の翻訳を抑制する働きがあることが判明した。さらに、局在するこれらの mRNA についてその機能面に迫るべく解析を進めた。本論文では、これらの mRNA の母性因子としての機能を明らかにすることはできなかった。*HrWnt-5* については、この遺伝子がザイゴティックに脊索を含む多くの系譜の細胞で発現することからその機能を調べたところ、特に脊索においてその形態形成運動を制御していることが明らかになった。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

多くの動物の受精卵の細胞質は均一ではなく、ある軸にそった母性因子の偏りが存在する。この母性因子の偏りまたは局在がその後の細胞の分化や形態形成に重要な役割を担う。したがって、母性因子が正しく局在するメカニズムを解明するこ

とは発生生物学上の重要な研究課題の一つであり、ショウジョウバエの突然変異体を駆使して、この動物での母性因子の局在メカニズムの解析が進んでいる。しかし、脊椎動物を含むその他の動物での母性因子の局在メカニズムはほとんど解明されていない。申請者はこれまでの研究から局在母性因子の重要性が指摘されているホヤ卵を用いて研究を進めている。

まず、マボヤ受精卵の母性 mRNA の発現パターンを網羅的に解析することによって、6種類の局在母性 mRNA の存在を明らかにした。そして、それらの局在パターンが、時間的・空間的差異から2つのタイプ (type I と type II) に分けられることを見出した。これらは、申請者の辛抱強くまた正確な研究を遂行する能力を示している。次に、これらの分子の局在を支える細胞骨格系をその重合阻害剤を使用して調べた実験から、これらの mRNA の局在にはアクチンフィラメント及び微小管が関与していることを明らかにした。しかし、本論文の最も重要な貢献は、局在に必要な mRNA 内の配列の同定を試み、さまざまな deletion constructs を作製して詳細な解析を行った結果、これら mRNA の後極への局在がその 3' 非翻訳領域によって制御されていること、また、type I の *HrWnt-5* の mRNA の局在には20塩基ほどのウラシル及びグアニンに富む配列が重要であることを明らかにした点である。申請者はさらに、type II の mRNA については type I とは異なる特徴を持った局在配列をもつことを明らかにしている。また、これらの局在母性 mRNA の機能発現の制御と関連した翻訳抑制のメカニズム、また *HrWnt-5* の機能の解析も試みており、申請者の研究意欲をよく表している。

これらの研究成果は、ショウジョウバエ以外の動物での母性因子の局在メカニズムを明らかにした点で重要である。申請者は既にこれらの研究に関連した数編の論文を国際誌に公表しており、申請者の研究能力は十分高いものと判断される。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文に値するものと認められた。なお、添付論文に報告されている研究業績を中心に、関連分野に関する試問を行った結果、適切な回答が得られたので合格と認定した。