

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	西山 翠
論文題目	マウス卵母細胞において紡錘体二極化を促進する因子Prc1の制御機構		
(論文内容の要旨)			
<p>細胞分裂において二極性紡錘体の形成は娘細胞に正しく染色体を分配するために必須である。多くの動物細胞においては、中心体が紡錘体二極化の空間的足場として機能する。一方で、中心体のない卵母細胞においては、他の細胞とは異なる機構によって紡錘体二極化が達成されると考えられる。マウス卵母細胞において紡錘体二極化に重要な役割を果たす因子として、アンチパラレル微小管クロスリンカーPrc1が挙げられる。卵母細胞においてPrc1は動原体に強く、微小管に弱く局在するという特徴的なパターンを示す。しかしながら、この局在パターンがどのように制御されているのかは分かっていなかった。</p> <p>申請者は本研究を通して、マウス卵母細胞においてPrc1の局在を制御する機構を追求した。</p> <p>まず、様々な細胞を用いてPrc1の局在を比較した。卵母細胞の減数第一分裂と第二分裂、精母細胞の減数第一分裂と第二分裂、初期胚細胞、胚盤胞期細胞、体細胞の分裂におけるPrc1の局在を比較したところ、中心体を持たない細胞（卵母細胞と初期胚細胞）においては動原体の局在が検出されたのに対し、中心体を持つ細胞（精母細胞、胚盤胞期細胞、体細胞）では動原体がほとんど検出されず、微小管により多く局在する傾向が見られた。また、減数第二分裂や体細胞分裂と比較し、減数第一分裂においてPrc1は動原体により多く局在する傾向が見られた。以上のことから、中心体がないことと、減数第一分裂期にあることが、卵母細胞に特徴的なPrc1の局在パターンに貢献することが示唆された。</p> <p>次に、卵母細胞でPrc1の局在を制御する分子経路について解析を行った。卵母細胞の減数第一分裂においてはCdk1キナーゼの時間的制御が特異的であり、紡錘体二極化の時期にはCdk1キナーゼ活性が最大に達していないことが知られている。これに着目し、Cdk1の阻害および過剰活性化実験から、Cdk1がPrc1の動原体および微小管への局在をネガティブに制御していることを見出した。Prc1上のCdk1リン酸化サイトに変異を導入し、卵母細胞において局在解析を行ったところ、非リン酸化型Prc1は微小管へより強く局在することが分かった。これらのことから、Cdk1は直接的なリン酸化を通してPrc1の微小管へ局在する機能を制限していることが明らかになった。さらに、非リン酸化型Prc1は紡錘体二極化のタイミングを早める効果があり、紡錘体チェックポイント依存的な細胞周期停止を引き起こしたことから、Cdk1によるPrc1の制御は、紡錘体二極化を適切なタイミングで行うことに重要であることが示唆された。</p> <p>最後に、卵母細胞でPrc1の局在を制御する動原体因子について解析を行った。複数の動原体キナーゼの阻害実験から、これらの活性がPrc1の動原体局在に必要なことを見出した。動原体因子Ndc80とPrc1が相互作用するドメインを同定し、その領域に動原体キナーゼが<i>in vitro</i>でリン酸化する新規のサイトを見出した。卵母細胞の免疫染色から、動原体におけるPrc1がこのサイトでリン酸化されていることが分かった。以上のことから、動原体キナーゼによるPrc1の局在制御を理解することの重要性が示された。</p> <p>これらの結果から、卵母細胞において紡錘体の二極化を促進する因子Prc1の局在制御について細胞学および分子的な機構の一端が明らかになった。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

卵母細胞における二極性紡錘体の形成は、卵子に正しい数の染色体を分配するために必要である。染色体分配エラーによって引き起こされる卵子の染色体数異常は、流産や、ダウン症などの先天性疾患の主要な原因である。ヒト卵母細胞では、紡錘体の二極化が失敗することにより染色体分配エラーが引き起こされることが知られている。したがって、卵母細胞における紡錘体二極化の機構を解明することは、細胞分裂という生命の基礎的な過程に理解を与えるのみならず、病態の理解へ向けた分子的知見を与えるうえでも重要な課題である。

申請者は本研究を通して、マウス卵母細胞において紡錘体二極化を促進するタンパク質である、アンチパラレル微小管クロスリンカーPrc1の局在制御を明らかにした。本研究は、卵母細胞において紡錘体二極化を制御する時空間的な機構の一端を明らかにした点で、大きな意義がある。本研究より前には、卵母細胞において特徴的な局在パターンを示すPrc1の局在制御に関わる分子経路はほとんど解明されていなかった。本研究はその理解に初めての手掛かりを提供したものと位置づけることができる。また、本研究はPrc1の局在制御には動原体と微小管のそれぞれで異なる分子経路が働いていることを示しており、複数の分子経路が協調してPrc1を空間的に制御するという、今後追求すべき新しい課題を提示している。さらに、申請者は、本研究で明らかになった制御機構についての知見をもとに、Prc1局在を人為的に操作することにも成功しており、その結果は、Prc1の局在制御は紡錘体の二極化が適切なタイミングで起こるために重要であることを示唆している。これらの結果は、これまで謎であった紡錘体二極化の時空間的制御の機構とその重要性について新規の知見を与えたものとして評価できる。

本研究では、卵母細胞におけるライブイメージング、免疫染色画像の定量的な解析、*in vitro*におけるリン酸化解析など、細胞生物学および分子生物学的な技術が複合的に用いられており、申請者の研究手技の多様性と高度さが発揮されている。論文は論理的に構成され、実験手法の着想の経緯、手法の詳細、結果とその解釈が証拠に基づき記載され、本研究の結果を踏まえた考察や将来の展望が妥当性をもって言及されている。

以上のように、本論文は生命科学に関する高度で幅広い学識、専攻分野における優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見および概念が示されており、論理的かつ一貫性をもって記述されている。よって博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。令和2年10月9日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日