

研究主論文抄録

論文題目

アフリカツメガエル卵母細胞の減数分裂期における Xtr タンパク質の役割に関する研究

熊本大学大学院自然科学研究科

理学 専攻

生命科学 講座

( 主任指導 高宗 和史 教授 )

論文提出者

大神 浩幹

(by Hiroki Ohgami )

主論文要旨

《本文》

アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) で見出された Xtr (*Xenopus tudor repeat*) 遺伝子は、生殖系列の細胞だけで発現している遺伝子である。その翻訳産物である Xtr タンパク質は、生殖系列の細胞に加えて母性因子として初期胚細胞にも存在している。受精卵におけるこれまでの解析により、Xtr タンパク質は messenger ribonucleoprotein (mRNP) の構成因子であり、その機能を阻害すると染色体や紡錘体形成が異常になることが明らかになっていた。減数分裂期に入った卵母細胞や精母細胞にも多くの Xtr タンパク質が存在する。このことから、減数分裂の進行にも Xtr タンパク質は働いていると予想される。本研究では、減数分裂の進行を人為的に誘導でき、かつ抗体など外来分子の顕微注入が容易な卵母細胞を用いて、減数分裂における Xtr タンパク質の役割について調べた。第一減数分裂前期の複糸期で停止している St.VI の卵母細胞に抗 Xtr 抗体を顕微注入し、その後 progesterone 処理で減数分裂再開を誘導したところ、減数分裂が進行し始めたことを示す卵核崩壊が正常に起こっていた。

しかし、第一減数分裂中期、および第二減数分裂中期において紡錘体の形成が阻害されていた。第二減数分裂中期で進行を停止している成熟卵に卵賦活を抑制した状態で脱核膜した精子核を顕微注入すると、精子核は染色体化し、その周りに紡錘体が形成されることがわかっている。そこで、成熟卵に抗 Xtr 抗体と共に精子核を顕微注入したところ、精子核は紡錘体を伴った染色体へと変化していた。一方、抗 Xtr 抗体を顕微注入した後に減数分裂再開を誘導して作成した成熟卵に精子核のみを顕微注

入したところ、精子核はわずかに膨潤したものの、染色体化も紡錘体の形成も起きなかった。以上の結果から、Xtr タンパク質は染色体化や紡錘体形成に直接働くのではなく、減数分裂進行過程で機能し、その機能が抑えられると結果的に減数分裂中期における紡錘体形成が異常になることが明らかになった。受精卵の Xtr タンパク質は mRNP 複合体構成因子の 1 つである。そこで、卵母細胞の Xtr タンパク質も mRNA と複合体を形成しているのか調べるため、抗 Xtr モノクローナル抗体を用いて共免疫沈降実験を行った。その結果、卵母細胞に存在する Xtr タンパク質と一緒に沈殿してくるものの中に mRNA が含まれることが明らかになった。検出できた mRNA の中に染色体分離などにおいて重要な役割を担っているタンパク質をコードする mRNA が含まれていたことから、Xtr タンパク質の役割はこれら mRNA の翻訳制御ではないかと予想した。Xtr タンパク質が形成する複合体に含まれる mRNA の一つに XL-INCENP mRNA があった。この mRNA は、St.VI の卵母細胞では翻訳が抑制されており、減数分裂再開後に翻訳活性が上昇することが明らかにされていた。そこで、この mRNA の翻訳を指標に、Xtr タンパク質の翻訳制御への関与を調べた。抗 Xtr 抗体を St.VI の卵母細胞に顕微注入した後、progesterone により減数分裂を再開させたところ、減数分裂再開後に起こる XL-INCENP mRNA の翻訳が阻害された。この結果から、Xtr タンパク質は、減数分裂後に始まる mRNA の翻訳を制御していることが示唆された。mRNA の中には、その 3'非翻訳領域 (3' untranslated region; 3'UTR) を介して翻訳制御を受けるものがあることがわかっている。そこで、XL-INCENP mRNA の 3'UTR を EGFP (enhanced green fluorescent protein) mRNA の open reading frame と連結した組み換え mRNA を作成し、これを用いて卵母細胞内での翻訳制御について調べた。その結果、内在性の XL-INCENP mRNA と同様に Xtr タンパク質の作用を必要とする翻訳制御を受けることが明らかになった。以上の結果から、Xtr タンパク質は、mRNP に含まれる mRNA の 3'UTR を介して、それらの翻訳を制御していることが明らかになった。