

氏名・本籍	石井 宏和（兵庫県）
学位の種類	博士（理工学）
報告番号	甲第84号
学位授与の日付	平成26年3月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当者
論文題目	Studies on the intracellular transport system for maternal factors in the ascidian egg (ホヤ卵における母性因子細胞内輸送システムに関する研究)
審査委員	(主査) 教授 西方 敬人 (副査) 教授 川上 純司 (副査) 教授 藤井 敏司

論文内容の要旨

ホヤ卵は典型的なモザイク卵として知られ、受精直後から第一卵割直前までの間に、卵細胞質ドメインが、大きくその局在パターンを変える細胞質再配置が起こる。これは、ひとつの細胞内物質輸送システムであり、種々の母性因子が発生運命地図に対応した卵領域へと輸送される。このホヤ母性因子の細胞内物質輸送システムでは、これまでにない新規で特徴的な輸送メカニズムが働いている可能性があるが、その分子メカニズムはほとんど明らかにされていない。そこで本研究では、ホヤ卵細胞質再配置のメカニズムを解明し、細胞内物質輸送の新たなメカニズムと概念を明らかにすることを目的とした。

まず私は、細胞質再配置メカニズムへの関与が期待されるホヤ母性タンパク質 p58 の分子の実体が F_0F_1 -ATPase の α サブユニット (ATP α) と同一であることを明らかにした。一般的に、 F_0F_1 -ATPase はミトコンドリア内膜に局在して ATP を産生するタンパク質複合体として知られている。しかし、ホヤ卵では F_0F_1 -ATPase の α および β サブユニットだけが、ミトコンドリア外のマイオプラズム表層領域に局在し、ミトコンドリア内とは異なる構成の複合体を形成して細胞骨格と結合していた。この新規な複合体を *exo*-ATP α/β と名付けた。

さらに、ミトコンドリア呼吸鎖阻害剤として知られる sodium azide (NaN_3) が、微小管依存的な第二細胞質再配置を阻害することを明らかにした。別の呼吸鎖阻害剤である oligomycin には同様の阻害効果が見受けられず、 NaN_3 が呼吸鎖以外の分子を阻害したことがわかった。また、 NaN_3 が卵割期胚における spindle midzone の形成や spindle orientation といった spindle dynamics に関わる微小管依存的メカニズムも阻害することがわかった。Spindle dynamics に対する同様な阻害効果は、ウニ胚やヒト培養細胞においても見受けられ、 NaN_3 が異なる動物種間で保存されている分子

をターゲットにして、微小管依存的な共通メカニズムを阻害していることが示唆された。

本研究で明らかにした $\text{exo-ATP}\alpha/\beta$ の存在は、常識的なミトコンドリア内膜の $\text{F}_0\text{F}_1\text{-ATPase}$ に対する理解を根底から覆し、細胞生物学をはじめとした様々な分野に多大なインパクトを与えるものである。さらに、今後の $\text{exo-ATP}\alpha/\beta$ の構成分子および機能解析と NaN_3 のターゲット分子の同定は、細胞内物質輸送の新たなメカニズムを明らかにするだけでなく、細胞分裂における spindle dynamics の解明という新たなテーマにも発展する可能性を持っている。

審査結果の要旨

申請者は、決定因子の分配に重要なホヤ卵における細胞質再配置を細胞内物質輸送と捉え、そのメカニズムを明らかにしようとしている。これまでミトコンドリアのマーカーとして知られていた p58 が $\text{F}_0\text{F}_1\text{-ATPase}$ α -subunit であり、本来ならミトコンドリア内の分子であるにも関わらず、細胞表層に $\text{exo-ATP}\alpha/\beta$ として存在しているという結果を、分子生物学的手法、免疫学的手法、細胞分画法、電子顕微鏡観察など、多様な手法を巧妙に組み合わせることで明らかにした。また種々の阻害剤を検討することで、 NaN_3 が第二細胞質再配置を阻害することを示した。さらに、 NaN_3 処理卵では精子星状体が細胞表層から離れてしまうことを詳細な経時的観察により示した。そのことは、微小管と細胞表層との関わりが第二細胞質再配置の主要なメカニズムになっており、そこに NaN_3 の標的分子が大きな役割を果たしていることを示している。これらの結果は、これまで微小管依存的に移動することだけが唯一の知見であった第二細胞質再配置メカニズムに対して、大きな進展と新たな解析のための糸口を与えている。

さらに、本研究で明らかになった $\text{exo-ATP}\alpha/\beta$ の存在は、細胞への新たなミトコンドリアの関与を示唆するものであり、真核生物の起源にも関連する大きなテーマにも発展する。また、 NaN_3 の標的分子が細胞質再配置だけでなく細胞分裂の際の紡錘体 midzone の形成や分裂装置の位置取りに、種を越えて関わっていることが明らかにされ、細胞分裂メカニズムの大きな課題として残されている核分裂と細胞質分裂との関連を明らかにできる可能性を持っている。

これらの成果は、国際的専門誌である、*PLoS ONE* (2013)、*Development, Growth and Differentiation* (2012, 2014) において発表され、*Development, Growth and Differentiation* (2014) では表紙を飾っている。また国際学会及び国内学会においても発表され、国内外において高い評価を受けている。

平成 26 年 1 月 29 日、本学の学位規程に従い公開講演会を行い、本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明はきわめて明快であり、応答内容も十分満足できるものであった。

以上により下記審査委員は本論文提出者（石井宏和）が、博士課程の修了に必要な所定の単位を修得し、かつ、必要な研究指導を受け、博士論文の審査及び最終試験に合格したので、博士（理工学）の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。