HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular biological studies on temporal and spatial regulation of translation during oocyte maturation in mouse [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	武井, 夏海
Description	担当：理学研究院図書室
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第14397号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82028
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Natsumi_Takei_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士(生命科学)　氏 名　武 井 夏 海

審査担当者	主査	准教授　小 谷 友 也
	副査	教 授　山 下 正 兼
	副査	教 授　黒 岩 麻 里
	副査	准教授　木 村　敦

学 位 論 文 題 名

Molecular biological studies on temporal and spatial regulation of translation during oocyte maturation in mouse
(マウスの卵成熟過程における翻訳の時空間制御の分子生物学的研究)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

多くの多細胞生物は、配偶子を形成することで種の繁栄を継続する。メスが形成する配偶子・卵母細胞は、その形成過程で多くの物質を蓄える。近年の研究で、卵母細胞に蓄えられる転写産物は一万種類を超えることが明らかとなってきた。これらのうち、半数近くの mRNA は翻訳を抑制され卵母細胞に蓄えられる。繁殖時期が訪れると卵母細胞はホルモン刺激を受け、停止していた減数分裂を再開、数百から二千近くの mRNA の翻訳を開始する。多くの脊椎動物では減数分裂を第二分裂で再度停止した卵を排卵し、精子との受精を待つ。減数分裂の再開から再停止までを卵成熟、受精可能となった卵を成熟卵と呼ぶ。卵成熟の開始後に翻訳される mRNA は減数分裂の進行と再停止、さらに受精後の卵割におよぶまで、重要な役割を果たす。その分子機構は古くから両生類の卵母細胞を用いた生化学的解析によって研究されてきた。その成果は、mRNA 分子に存在するシス因子の発見、および、これらシス因子に結合しトランスに働く蛋白質の発見をもたらした。しかし、卵母細胞の細胞質において実際にどのように翻訳が制御されているのかについてはほとんど解析されていない。本論文は、卵細胞質において mRNA 分子がどのように翻訳を制御されるのか、その分子機構を細胞生物学的に明らかにし、その本質的な理解を追求することを目的とした。本論文の構成は、新規の組織化学的解析法の確立について述べた第一章、減数第一分裂の進行に重要な翻訳制御機構について述べた第二章、減数第二分裂の進行に重要な翻訳制御機構について述べた第三章から成る。

細胞質における mRNA 分子の制御機構の研究が困難な理由として、その検出が極めて難しいことが挙げられる。本論文ではこの問題を解決するため、生体組織での高感度・高解像度 *in situ* hybridization 法を第一章において確立した。この解析法は、卵形成過程における種々の mRNA の分布とその変化を明らかにしたのみでなく、魚類のゼブラフィッシュと哺乳類のマウスにおける mRNA 分子の存在様式の普遍性と特異性を明らかにした。さらに、この手法は第二章における減数分裂第一分裂で翻訳される cyclin B1 と *Mad2* mRNA の存在様式とその変化、第三章における第二分裂で翻訳される *Emi2* mRNA の存在様式とその変化を明らかにした。

卵成熟が開始されると数千に及ぶ mRNA の翻訳が活性化する。この中で、cyclin B1 mRNA の翻訳は卵成熟促進因子・MPF を活性化し、減数分裂の進行に重要な核膜の崩壊、染色体の凝縮、紡錘体の形成を引き起こす。本論文の第二章では、紡錘体形成チェックポイント蛋白質の Mad2 をコードする mRNA が cyclin B1 mRNA と同時期に翻訳されることを示した。翻訳時期を同じくす

る *Mad2* と cyclin B1 mRNA は、Pumilio1 と呼ばれる RNA 結合蛋白質の共通の標的であったが、これら mRNA は卵細胞質においてそれぞれに異なる RNA 顆粒を形成することを見出した。Pumilio1 は未成熟卵で不溶性かつ不動性の凝集体を形成し、cyclin B1 と *Mad2* mRNA を取り囲むように存在した。この凝集体は卵成熟開始後に可溶化・可動化すること、その脱凝集化を阻害した場合、cyclin B1 と *Mad2* mRNA の RNA 顆粒構造が維持され、翻訳が活性化しないことを示した。これは、RNA 結合蛋白質の凝集化と脱凝集化が標的 mRNA の翻訳に関わることを初めて示したものであり、細胞質における mRNA と結合蛋白質が時空間において高度に制御されることを明らかにしたものとして高く評価される。

卵母細胞は減数第一分裂を終了後、引き続き減数第二分裂に入り紡錘体を形成する。この過程は半数体の配偶子の形成に極めて重要である。Emi2 蛋白質は減数第二分裂から卵母細胞に蓄積され、後期促進因子(APC/C)の活性を阻害することで第二分裂の進行を促進する。本論文は、この Emi2 蛋白質の蓄積が翻訳レベルで制御されていることを第三章において明確にした。*Emi2* mRNA は第一分裂で翻訳される cyclin B1 mRNA とは異なる顆粒を形成し、Pumilio1 とは結合しないことが示された。一方で、HuR と HuB と呼ばれる RNA 結合蛋白質は両方の mRNA に結合することが示された。網羅的に *Emi2* mRNA に特異的に結合する蛋白質を解析した結果、Tdrd3 蛋白質が同定され、*in vitro* と *in vivo* の解析で Tdrd3 が *Emi2* mRNA に直接結合すること、および RNA 顆粒の構成因子であることが示された。Tdrd3 抗体の微量注入によって減数第二分裂における *Emi2* mRNA の翻訳は阻害され、反対に第一分裂における cyclin B1 と *Mad2* mRNA の翻訳は影響を受けなかった。これらの結果から、Tdrd3 は *Emi2* mRNA の顆粒に特異的に局在し、第二分裂での翻訳の活性化に関わると結論される。以上の成果は、第二分裂特異的に翻訳を活性化する蛋白質が存在すること、その機構は時空間において高度に制御されることを示したもので画期的な成果といえる。

以上の成果より、著者は mRNA の翻訳制御機構において時空間に高度に制御される分子機構の存在と詳細な仕組みについて多くの新知見を得たものであり、翻訳の制御の本質に迫るとともに本研究分野の発展に資すること大である。

よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。