



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Molecular Biological Studies on the Spatial and Temporal Regulation of mRNA Translation during Early Zebrafish Development [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	佐藤, 圭祐
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第16285号
Issue Date	2025-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95490
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Keisuke_Sato_review.pdf, 審査の要旨



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 佐藤 圭祐

審査担当者	主査	准教授	小 谷 友 也
	副査	教 授	勝 義 直
	副査	教 授	木 村 敦
	副査	准教授	荻 原 克 益

学 位 論 文 題 名

Molecular Biological Studies on the Spatial and Temporal Regulation of mRNA Translation
during Early Zebrafish Development
(ゼブラフィッシュ初期発生における mRNA 翻訳の時空間制御機構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）

多くの動物の受精卵は、翻訳を抑制された mRNA を数千種類持つ。これら mRNA の翻訳抑制は受精後の適切な時期に適切な場所で解除され、タンパク質を合成する。合成されたタンパク質は発生のさまざまな現象を進行させる。したがって、受精卵が持つ mRNA がどのように翻訳を抑制され、いつ・どこで翻訳されるのかを研究することは、動物の発生を理解するために極めて重要である。しかし、その研究は容易ではなく、本研究分野はほとんど進展してこなかった。一方で、翻訳を抑制された mRNA が時期特異的に翻訳される分子機構は、アフリカツメガエルを用いた卵成熟過程の研究で解明されてきた。卵成熟とは、排卵直前に卵母細胞が減数分裂を再開し、受精可能な卵母細胞となる過程である。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、受精後に同様の分子機構が機能するかは不明である。本論文は、受精後に翻訳される mRNA がいつ、どこで、どのように翻訳を制御されるのか、その分子機構の解明を目的とした。本論文の構成は、動物の発生に重要な *pou5f3* 遺伝子の時空間的な翻訳制御の存在を示した第一章と、その翻訳を制御する分子機構を明らかにした第二章から成る。

ゼブラフィッシュの *pou5f3* mRNA は転写因子の Pou5f3 をコードする。変異体の解析から、Pou5f3 は初期発生のさまざまな現象に関わることが示されてきた。しかし、*pou5f3* mRNA がどのように受精卵で維持され、どの時期にタンパク質となるのかは定かではなかった。本論文の第一章では、Pouf3 タンパク質を特異的かつ高感度に検出できる抗体を作製し、mRNA の発現を高感度に検出する in situ hybridization 法と組み合わせることで、初期発生におけるタンパク質合成の時期と部位を詳細に解析した。その結果、ゼブラフィッシュの受精卵で *pou5f3* mRNA は翻訳を抑制され、顆粒状の構造で細胞質に分布すること、この *pou5f3* の RNA 顆粒は固相様の性質を示し、卵割期に液相様の性質に変化することを明らかにした。さらに、液相様の RNA 顆粒において活発に翻訳が起こることを示すに至った。すなわち、*pou5f3* mRNA は翻訳のレベルで制御を受け、その制御は顆粒状の構造内で起こることが示された。

本論文の第二章では、*pou5f3* mRNA がどのように翻訳制御を受けるのか、その分子機構の解明を目的とした。研究室の先行研究から、*pou5f3* mRNA に結合しうるタンパク質が複数同定された。本研究では Syncrip と Ewsr1b タンパク質に注目し、初期発生におけるそれぞれの発現パターンと、*pou5f3* mRNA の翻訳における機能を解析した。Syncrip タンパク質はゼブラフィッシュ

の受精卵に存在し、*pou5f3* mRNA と結合することが特異的抗体を用い示された。Syncrip の発現量は卵割期に徐々に減少し、原腸胚期初期では約 20% となった。GFP を融合した Syncrip を過剰発現した結果、*pou5f3* mRNA の翻訳が阻害されたことから、Syncrip は卵割期に翻訳が活性化するまで *pou5f3* mRNA の翻訳を抑制すると考えられた。一方で、Ewsr1b タンパク質は受精直後に合成され、その後に *pou5f3* の RNA 顆粒と共局在することが示された。Ewsr1b の合成を阻害した胚では *pou5f3* RNA 顆粒が液滴化せず Pou5f3 タンパク質の合成も阻害されたことから、Ewsr1b は顆粒の変化を介して *pou5f3* mRNA の翻訳を活性化すると考えられた。さらに、Ewsr1b をコードする mRNA は 16 塩基のみの短い 3' UTR を持つバリエーションと 300 塩基の 3' UTR を持つバリエーションの 2 種類存在することが見出された。この 3' UTR の長さの違いは、翻訳が活性化する時期と合成されたタンパク質の局在の両方を制御することが示された。以上の成果は、受精後に翻訳される mRNA が異なるタンパク質によって時空間的に制御されること、さらに長さの異なる 3' UTR によって翻訳時期とタンパク質の局在が制御されるという新規の分子機構の存在を見出したもので、受精後の翻訳制御機構を包括的に解明した研究として極めて高く評価される。

以上の成果より、著者は mRNA の翻訳制御機構において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、RNA 制御と動物の発生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。