

論文審査結果の要旨

氏名 添田翔

本論文は序論、実験結果、考察、材料・手法、参考文献について述べられた各章からなる。

本論文はマウス受精卵における前核形成の時間制御機構の解析について述べられている。減数第二分裂中期で停止していたマウス卵細胞雌性染色体は受精の開始に伴い、減数分裂を再開し、染色体分配の後に半数体ゲノムの片方を極体として放出し、残りの片方は前核を形成する。この過程において染色体分配から前核形成までは1時間以上という長時間を要する。これは体細胞期には見られない特徴である。この前核形成時間制御の詳細な機構は未知であった。これまで前核形成の必要条件と考えられてきた **ERK** 不活性化について前核形成との関係を精査した結果、**ERK** 不活性化は前核形成の後に起こることがわかった。一方で **ERK** の薬剤による不活性化は前核形成をわずかに早めた。また **ERK** により活性化される **RSK** の薬剤による阻害も同様の効果があることがわかった。これらの結果から **ERK-RSK** は前核形成に抑制的な働きがあるが、前核形成開始はこれらの不活性化によってではなく別の因子によって制御されることを明らかにした。そこで次に体細胞で分裂期終了に働くことが知られる **Cdk1-Mastl-Ensa-PP2A** 経路の前核形成への働きを調べた。**Cdk1** は **Mastl** をリン酸化し活性化し、**Mastl** は **Ensa** をリン酸化する。リン酸化 **Ensa** は **PP2A B55** に結合し活性を阻害する。前核形成時には **Mastl** の脱リン酸化に長時間を要し、次いで **Ensa** 脱リン酸化が起こり、そのすぐ後に前核形成が起こるという動態を示すことがわかった。さらに **PP1**、**PP2A** 阻害剤であるオカダ酸処理、**Mastl** の過剰発現で前核形成が遅くなること、**Mastl** ノックダウンで前核形成が早くなることがわかった。これらの結果から前核形成開始に **Mastl** 経路が直接働いていることが強く示唆された。さらに **RSK** 阻害により **Mastl**、**Ensa** 脱リン酸化が早まることがわかった。**Mastl** には **RSK** コンセンサスリン酸化サイト **Thr297** があり、これが **RSK** により *In vitro* でリン酸化されることを示した。また **RSK** が **Mastl** を活性化あるいは不活性化の阻害をする場合、**PP2A** 活性化が遅くなることを数理モデリングを用いて確認した。これらの結果から、**ERK-RSK** が **Mastl** 経路の活性を制御することで前核形成タイミングを遅らせているというモデルを提唱している。

また、上記の分子機構に加えて本論文では前核形成に長時間を要することに関して、その生理的な意義の解析について述べられている。脱リン酸化酵素 PP1 の過剰発現により前核形成が大きく早期化することを発見し、その影響を解析した。その結果、通常の受精卵では雌性前核より雄性前核が大きくなるのに対して前核形成を早期化した受精卵では雄性前核が雌性前核より小さくなるという表現系が見られた。さらにこの前核形成を早期化した卵の発生への影響を見ると、第一卵割時に染色体が姉妹細胞にまたがって伸びる **chromosome bridge** と呼ばれる染色体不分離を高頻度に起こすことがわかった。前核形成を早期化した単為発生卵ではこのような染色体不分離は低頻度であったことから、前核形成の早期化は雄性前核形成に異常を起こすことが示唆された。これらの結果から、卵細胞は前核形成までの時間を確保することで精子核から雄性前核への変化を保証するという全く新しい概念を提唱している。

本論文は受精卵での前核形成までの細胞周期制御に関してその分子機構を理解する上で重要な知見を明らかにしており、また、雄性染色体変化に受精開始後の卵細胞の細胞周期制御が重要な意義を持つという新しい概念を提唱している。この成果は細胞周期制御、核・染色体制御、胚発生などの研究分野において重要な位置付けを有していると考えられる。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。