

博士論文審査報告書

論文題目：生殖細胞系列のミトコンドリアの正確な次世代への伝達機構

申請者： 向後 直美

1. 論文内容の要旨

多くの動物において、ミトコンドリアは、雌性生殖細胞を通して正確に次世代に受け継がれる。ミトコンドリアは多くのATPを合成し、同時に活性酸素(ROS)を産生する。そのため、次世代へ受け継がれるミトコンドリアは、ROSによるmtDNAの損傷を回避するような特殊な機構を必要とする。次世代へ受け継がれるミトコンドリアを生殖細胞系列のミトコンドリア、次世代へ受け継がれないものを体細胞系列のミトコンドリアと定義する。私は、生殖細胞系列のミトコンドリアは体細胞系列とは性質が異なると仮定した。そこで、生殖細胞系列のミトコンドリアと体細胞系列のミトコンドリアのプロテインプロファイルを、二つの異なるステージの卵母細胞を用いて比較した。その結果、ATP synthaseのいくつかのサブユニットの発現が、生殖細胞系列のミトコンドリアで低レベルであり、免疫組織学的な手法によっても確かめられた。シトクロムc酸化酵素(COX)の活性も、DABを用いた電子顕微鏡組織学的な手法によって、生殖細胞系列のミトコンドリアで低下することがわかった。そして、stage I から VI の卵形成過程で、生殖細胞系列と体細胞系列のミトコンドリアが、一つの卵母細胞の中で分離していった。

生殖細胞系列のミトコンドリアで、タンパク質レベルで発現が低下していたF₀-b、F₁-β、F₁-δが、転写制御または翻訳制御されているかどうか調べるために、stage I 卵母細胞と stage VI 卵母細胞での各 mRNA の発現量を調べた。その結果、F₀-b、F₁-β、F₁-δの mRNA は stage I 卵母細胞、そして、stage VI 卵母細胞の生殖細胞質周辺にも十分存在し、転写制御ではなく、翻訳制御されていることが示唆された。

呼吸鎖複合体は、mtDNA と核 DNA によってコードされた両方のペプチドにより互いに協調しあって厳格に形成される。呼吸鎖複合体のタンパク質の発現は mtDNA にコードされた遺伝子の発現が律速段階になる。そこで、stage I と VI 卵母細胞で mtDNA コードの遺伝子の mRNA の発現を調べたところ、stage I 卵母細胞 (生殖細胞系列) で発現が著しく低く、核由来の F₀-b などのタンパク質の翻訳抑制につながったと考えられる。

ATP synthase と COX 活性によって示される呼吸活性は、配偶子形成過程の多くの期間で低下している。私は、呼吸活性が低下している生殖細胞系列のミトコンドリアは、ROS の産生を抑え、世代から世代へ、正確な mtDNA の伝達を可能にしていることを提起する。

2. 論文審査結果

ミトコンドリアは、正確に次世代に伝達され、現在まで維持されている。一方で、ミトコンドリアは ATP を合成し、同時に活性酸素(ROS) を産生する。それ故、生殖細胞系列のミトコンドリアは ROS による mtDNA の損傷を回避する機構を必要とする。そこで、生殖細胞系列のミトコンドリアは、次世代へ伝達されないミトコンドリア（体細胞系列のミトコンドリア）と性質が異なると仮定し、両者の構成タンパク質を比較した。すると、ATP synthase の発現が生殖細胞系列のミトコンドリアで低かった。また、シトクロム c 酸化酵素 の低活性も電子顕微鏡レベルの解析によってわかった。

生殖細胞系列のミトコンドリアの呼吸活性の低下の発見は極めて重要である。本研究は、生殖細胞系列のミトコンドリアが ROS の産生を抑え、次世代への正確な mtDNA の伝達を保証する重要な機構を提起するものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成 23 年 1 月 27 日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査： 渡辺 憲二 印

副査： 吉川 信也 印

： 阪口 雅郎 印

： 小林 悟 印

（基礎生物学研究所、発生遺伝学研究部門、教授）