

# 博士論文審査報告書

論文題目：ミトコンドリアを指標とした生殖細胞質の動態の解析、特に始原生殖細胞形成について

申請者：田口彩華

## 1. 論文内容の要旨

ショウジョウバエやカエルなど多くの動物は生殖細胞質と呼ばれる特別な細胞質により生殖細胞の特殊化を行う。生殖細胞質は豊富なミトコンドリア、特異的な RNA やタンパク質などから構成される。アフリカツメガエルの生殖細胞質は卵の植物極表層に存在する。受精後 2 回の細胞分裂で約 4 個の割球に生殖細胞質は分配される。その後何回かの細胞分裂では、細胞表層の一部に維持された生殖細胞質は一方の細胞のみに受け継がれ、生殖細胞質をもつ細胞の数は増加しない。組織学的な観察によれば、細胞の表層に局在していた生殖細胞質は、中期胞胚期に入ると、核周辺に移動する。この時期から、生殖細胞質と核とが相互作用することで、始原生殖細胞そして生殖細胞への分化が進むと考えられている。生殖細胞質が核周辺へ再配置する機構、そして生殖細胞質と核との相互作用が重要であると認識されていたにもかかわらず、アフリカツメガエルでは、適切な実験系がなかったために分子細胞学的な研究は進んでいなかった。

本研究では、生殖細胞質の再配置、さらに生殖細胞質特異的分子の局在化機構の解析を行うことを目的とし、生殖細胞質のライブイメージング法を検討した。生殖細胞質にミトコンドリアが多く含まれることに着目し、ミトコンドリアを enhanced green fluorescent protein (EGFP) で標識したトランスジェニックカエル Dria 系統を作成し、生きたまま生殖細胞質を可視化した。EGFP の発現は、雌の生殖系列ではほぼ全ステージで維持されたが、雄の生殖系列では抑制されていた。Dria 系統の初期胚を用いて St.9 での生殖細胞質の細胞膜付近から核周辺への再配置が微小管依存的に起こることを示した。また、生殖細胞質特異的分子である Dead end (DND) タンパク質の局在化機構を調べるために、Dria 胚に DND と mCherry との融合タンパク質を発現させた。DND-mCherry は St. 8 では細胞膜付近に生殖細胞質と共局在し、St. 15 では、核の中に存在することが分かった。さらに、欠失実験により DND タンパク質の生殖細胞質への局在化に必要なドメインと核移行に必要なドメインを同定した。

## 2. 論文審査結果

申請者である田口彩華は、ミトコンドリアを蛍光標識したトランスジェニックガエル(Dria 系統)を作製し、生きたまま生殖細胞質の動態解析を行った。Dria 系統の雌の生殖系列のほぼすべての生活環で生殖細胞質、始原生殖細胞 (PGC) を可視化できた。ついで、PGC 形成に重要とされる生殖細胞質の細胞膜付近から核周辺への再配置に注目した。再配置が微小管依存的に起こること、ミトコンドリアのみならず生殖細胞質特異的分子を伴うことを明らかにした。また、PGC 形成に重要な Dead end タンパク質と蛍光タンパク質との融合コンストラクトを Dria 胚に注入することで、Dead end 配列中の生殖細胞質への局在化ドメインと核への局在化ドメインを初めて明らかにした。

以上の成果は、ミトコンドリアを生きたまま標識することが生殖細胞質の局在の変化や生殖細胞質特異的分子の局在化機構の解明に非常に有用であることを示した。さらに、生殖細胞質の機能全般を解析するための新しいシステムを開発したと評価される。

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 25 年 1 月 24 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：吉田 秀郎 印

：水島 恒裕 印

：木下 勉 印

(立教大学理学部生命理学科、教授)