

Title	The Structure and Localization of IP3 Receptor in Oocytes and eggs of Xenopus and its function in Egg Activation
Author(s)	桑, 昭苑
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3064559">https://doi.org/10.11501/3064559</a>
DOI	10.11501/3064559
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	桑 昭 苑
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 0 4 8 9 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 4 年 12 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科 生物化学専攻
学 位 論 文 名	The Structure and Localization of IP <sub>3</sub> Receptor in Oocytes and eggs of <i>Xenopus</i> and its function in Egg Activation (アフリカツメガエルの卵の活性化における IP <sub>3</sub> 受容体の役割 —IP <sub>3</sub> 受容体の構造と機能の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 浅野 朗 (副査) 教 授 松代 愛三 教 授 中村 隆雄 東京大学教授 御子柴克彦

### 論 文 内 容 の 要 旨

受精あるいはその後の形態形成において、イノシトールリン酸、代謝回転が関与することがいくつかの実験系で示唆されている。受精時の情報伝達については、精子と卵との相互作用によりホスホリパーゼCが活性化され、細胞膜リン脂質の微量成分であるホスホチジルイノシトール4, 5-二リン酸 (PIP<sub>2</sub>) より水溶性のイノシトール三リン酸が水解され、細胞内 Caストアより Ca を放出させる。細胞内の遊離 Ca<sup>2+</sup> の増加は卵の活性化、そしてそれに続く発生プログラムの引き金となることが、いくつかの動物種で示されている。最近、マウス小脳より IP<sub>3</sub> 受容体 cDNA がクローニングされ、cDNA トランスフェクション実験により、IP<sub>3</sub> 依存性カルシウムチャンネルであることが明らかにされている。

本研究は、卵の活性化において、IP<sub>3</sub> による細胞内遊離 Ca<sup>2+</sup> の調節が情報伝達経路として関与する可能性を検討するために、アフリカツメガエルを材料に、IP<sub>3</sub> 受容体に注目して解析を行った。

まず、アフリカツメガエル卵母細胞の IP<sub>3</sub> 受容体の cDNA をクローニングし、その全塩基配列を決定したところ、マウス小脳 IP<sub>3</sub> 受容体とアミノ酸レベルにおいて約95%のホモロジーを有し、マウス小脳 IP<sub>3</sub> 受容体と同様に IP<sub>3</sub> 同様に IP<sub>3</sub> 依存性カルシウムチャンネルであることが強く示唆された。培養細胞 NG108-15 へのトランスフェクション実験により、この分子の IP<sub>3</sub> 結合活性が確認された。得られた cDNA 塩基配列に基いて *Xenopus* IP<sub>3</sub> 受容体に対する特異抗体を作成し、免疫組織化学的手法を用いて、*Xenopus* 卵母細胞及び未受精卵における IP<sub>3</sub> 受容体の細胞内局在を明らかにした。すなわち、1, 卵母細胞において IP<sub>3</sub> 受容体は表層、そして細胞質内部の全域に発現がみられ、特に動物極においておおく発現する。2, *in vitro* でプロゲステロンにより成熟した卵においては、IP<sub>3</sub> 受容体は全細胞の表層部に多く発現し、そして細胞質内については動物極の yolk free patch に局在する。3, 未受精卵においては、動物極の細胞質内部に IP<sub>3</sub> が局在する。そして全細胞との表層部に sharp な染色像として検出された。4, 受精卵では IP<sub>3</sub> 受容体の局在する構造がくずれ、表層部の染色像が不明瞭になる。IP<sub>3</sub> 受容体が動物極に局在することは、精子が動物極より進入し、精子進入点からの Ca 波の発生とよく対応する。また、成熟卵および未受精卵の表層における局在、及び受精時における局在の変動について、*Xenopus* IP<sub>3</sub> 受容体に対して特異性の高い抗体を用いて明らかにし

た報告はこれが最初である。

またIP<sub>3</sub>受容体に対する特異的 Antisense oligonucleotide を用いた阻害実験では, Antisense oligonucleotide を注射した卵は sense oligonucleotide 注射した卵に比べ IP<sub>3</sub> による卵の活性化が阻害された。このことより卵の活性化には IP<sub>3</sub> 受容体が必須である。

### 論文審査の結果の要旨

動物の卵の受精から発生までに細胞内 Ca<sup>2+</sup> 濃度の一過的な上昇が必要なことはよく知らされている。本研究は, IP<sub>3</sub> 受容体のクローニング, 構造決定と機能の測定, 抗体の作成などを行ったのちに, アンチセンス核酸の注入が, この受容体の発現と卵の活性化を阻害することを見だし, この過程がイノシトールトリリン酸 (IP<sub>3</sub>) 受容体を介した反応であることをはっきりと示したものである。よって本論文は, 博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。