



Title	The Structure and Localization of IP3 Receptor in Oocytes and eggs of Xenopus and its function in Egg Activation
Author(s)	条, 昭苑
Citation	大阪大学, 1992, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3064559
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	糸 昭 菲
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 ₃ Receptor in Oocytes and eggs of Xenopus 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 ₃ 受容体の役割 -IP3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(PIP2)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Ca²⁺を放出させる。細胞内の遊離Ca²⁺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IP3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、IP3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、IP3による細胞内遊離Ca²⁺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、IP3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IP3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IP3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IP3受容体と同様にIP3同様にIP3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IP3結合活性が確認された。得られたcDNA塩基配列に基いてXenopus IP3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IP3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IP3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、IP3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IP3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IP3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。IP3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、XenopusIP3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IP3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 IP3 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 IP3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^{2+} 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、IP3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いだし、この過程がイノシトールトリリン酸 (IP3) 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。