

Title	マウスt12変異胚発生異常の分子生物学的研究
Author(s)	野崎, 正美
Citation	大阪大学, 1986, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35227
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	の 野	の 崎	まさ 正	み 美
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	7 2 2 0	号	
学位授与の日付	昭和 61 年 3 月 25 日			
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当			
学位論文題目	マウス t^{12} 変異胚発生異常の分子生物学的研究			
論文審査委員	(主査) 教授 松代 愛三 (副査) 教授 吉川 寛 教授 松原 謙一			

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

マウス第17染色体上に起こったT/t突然変異の多くは劣性致死であり、ホモになると胚発生の様々な段階で致死効果を現わす。中でも最も早い段階で致死となる t^{12}/t^{12} 胚は卵割期までは正常に発生するが、その後compactionの過程で形態異常を示し、胚盤胞形成することなしに死に至る。正常胚においてこの時期は、それまで等価であった割球が内部細胞塊と栄養芽層の2種の細胞に分化する段階であるため、胚発生における最初の分化過程を理解する上で t^{12}/t^{12} 胚の発生異常の解析は重要と考えられる。そこで、この時期の t^{12}/t^{12} 変異胚と正常胚とのタンパク合成パターンを二次元電気泳動により比較し、差異を示すタンパクと発生異常との関連性を検討した。

(方法ならびに成績)

これまででは t 変異胚 (t/t) と野生型胚 ($+/t$, $+/+$) とを形態変異前に区別することは困難であるため、 t/t 胚についての知見はすべてヘテロな遺伝子型 ($+/+$, $+/t$, t/t) を含む胚集団と野生型 ($+/+$) 集団との比較を行ったもののみで、遺伝子型が確認された t/t 胚そのものに関する知見は皆無であった。そこで本研究では $+/t^{12} \times +/t^{12}$ の交配により得た胚をin vitroで ^{14}C -アミノ酸ラベルした後、1個ずつO'Farrellの二次元電気泳動を行ない、各胚のタンパク合成パターンを調べた。胚の遺伝子型は、二次元電気泳動上で検出される t -特異的タンパクTCP-1aとその野生型TCP-1bにより知ることができた。この単一胚のタンパク解析の結果、以下のことが明らかとなった。

1) 以前、 t -遺伝子複合体特異的タンパク (TCP-1) が精巢細胞で発現しているという報告があったため、胚での合成を調べたところ、2細胞期以後、胚盤胞期までは発現していることを確認した。

2) 各遺伝子型を持つ胚の割合は, t^{12}/t^{12} (44%), $+/t^{12}$ (50%), $+/+$ (7%)であり, 今まで報告されている通り, t 突然変異が雄性配偶子を通じ, 次世代へ高率に伝達されるという知見を確認した。

3) タンパクへの ^{14}C -アミノ酸の取りこみ量およびPoly (A)⁺, Poly (A)⁻RNAへの ^3H -ウリジンの取りこみ量を調べたところ, 形態変異を示す前まではタンパク合成量, RNA合成量ともに t^{12}/t^{12} 胚と野生型胚で差は検出されなかった。

4) 野生型胚と t^{12}/t^{12} 胚とでタンパク合成の二次元電気泳動パターンに大きな差は認められなかった。ところが, 桑実胚期において t^{12}/t^{12} 胚では分子量45-65Kのタンパクの中にその合成が抑制されているものがあった。このタンパクは高塩濃度で, 中性界面活性剤にたいし不溶性であり, ケラチン抗体と反応することからサイトケラチンタンパクと推定した。この結果, t^{12} 変異は胚発生の過程で桑実胚期以後, 胚盤胞形成期に栄養芽層に分化する細胞で合成が開始されるサイトケラチン様intermediate filamentタンパク合成を抑制することが示唆された。

(総括)

1) 着床前マウス胚をラベルすることにより一個ずつのタンパク合成パターンを二次元電気泳動上で解析可能であることを示した。

2) マウス初期胚でのTCP-1タンパクの合成を二次元電気泳動上で確認し, これを指標として t^{12}/t^{12} 胚のタンパク合成パターンを解析した。

3) t^{12}/t^{12} 変異胚は, 形態変異を示すまではタンパク合成量, RNA合成量ともに正常胚と差は認められないが, この時期に開始されるサイトケラチン合成が著しく抑制されていることが明らかとなった。このことからサイトケラチン合成と胚盤胞形成との関連が推定される。

論文の審査結果の要旨

本研究は遺伝子マーカーを用いることにより, t^{12} 胚を同定し, t^{12} 胚では胚盤胞形成過程での形態異常が起る前にサイトケラチン合成が抑制されていることを明らかにするとともに, 胚盤胞形成過程でサイトケラチンが重要な役割を果すことを示した。

本研究で得られた知見は, マウス胚発生の分子機構を解明する上で, 大きく寄与するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。