

主 論 文 要 旨

| | | | | |
|--|---------|---|-----|-------|
| 報告番号 | (甲) 乙 第 | 号 | 氏 名 | 中地 美都 |
| 主 論 文 題 目： Study on species-specificity of fertilization in starfish (ヒトデにおける受精の種特異性に関する研究) | | | | |
| (内容の要旨) | | | | |
| <p>受精は、時間・空間的に厳密に制御された複数の精子-卵相互作用、つまり素過程から成る。普通、受精は同種間のみで種特異的に起こることにより、種の存続が保証される。体外受精する海産無脊椎動物ヒトデにおいては、効率的な受精や他種との交雑回避の必要から、受精の種特異性は特に重要と考えられる。ヒトデの受精における素過程のうち、精子活性化・誘引および先体反応に関わる分子が同定されていた。キヒトデ <i>Asterias amurensis</i> の精子活性化・誘引は、卵外被であるゼリー層由来の、34 アミノ酸から成る精子活性化ペプチド、asterosap (asteroidal sperm-activating peptide) が、精子側受容体の膜貫通型グアニレートサイクレスに結合することによって起こる。同じくキヒトデの先体反応は、ゼリー層の成分である ARIS (Acrosome Reaction-Inducing Substance)、Co-ARIS (co-factor of ARIS)、asterosap の協調的作用によって誘起される。ARIS は見かけ分子量が 10⁴ kDa 以上の硫酸化プロテオグリカン様分子であり、先体反応誘起に中心的役割を果たすが、正常海中において単独では先体反応誘起活性を示さない。一方、硫酸化ステロイドサポニンの Co-ARIS と、asterosap は、ともに ARIS の補助的役割を果たす。本論文では、ヒトデの受精と、精子活性化および先体反応誘起の特異性、これらと種分化との関わり、そして精子活性化のシグナル伝達解明を目的とした研究の成果を報告した。</p> <p>第 1 章では、緒言としてヒトデにおける精子活性化・誘引および先体反応誘起分子群とその作用機序、そして受精と先体反応の特異性についての知見をまとめ、重要性を指摘した。</p> <p>第 2 章では、受精の種特異性が先体反応の種特異性にもとづくという仮説を検証した。近縁のヒトデ 6 種を用いて、受精膜形成を指標として判断した受精は、不完全ながらも種特異的であることを示した。一方、卵ゼリーによる先体反応誘起は、亜科特異的であることを明らかにした。つまり、受精の種特異性は、先体反応以外の過程の関与が必要であることを示唆した。また、抗体反応 (ELISA) により、ARIS 活性糖鎖 Fragment 1 の構造も亜科特異的であり、先体反応の特異性と相関があることを明らかにした。</p> <p>第 3 章では、まず asterosap による精子活性化が、目特異的であることを明らかにした。次に、分子レベルでの特異性に着目し、asterosap とその受容体、グアニレートサイクレスをクローニングした。同目内の 5 種から、asterosap と受容体の一次配列を決定し、種間で良く保存されていることを明らかにした。また、分子進化解析により、これらが種分化に直接関わった可能性が低いことを示した。さらに、配列と立体構造予測にもとづき、同目内に共通の asterosap-受容体結合・活性化モデルを提案した。これは、ラットのナトリウム利尿ペプチドとその受容体に類似することが推測された。</p> <p>第 4 章では、精子細胞内シグナル伝達に関わるタンパク質候補の探索のため、ヒトデ精子頭部および尾部のプロテオーム解析を、1D-PAGE-LC/MS/MS により行った。各画分からシグナル伝達関連タンパク質を含む 50~100 種のタンパク質を同定した。うち、asterosap 受容体は、調べた 3 種 (<i>A. amurensis</i>, <i>A. forbesi</i>, <i>Asterina pectinifera</i>) 共通に、精子尾部にメジャーなタンパク質として存在することを示唆した。またペプチド断片の位置から、機能の保存を示唆した。他の同定タンパク質には、ヒトデ精子におけるシグナル伝達の従来の仮説を支持するものに加え、新たなシグナル伝達経路の存在を示唆するものがあることを示した。</p> <p>第 5 章では、以上の研究を総括し、今後の展望を述べた。</p> | | | | |