

論文要旨

イトマキヒトデ卵減数分裂進行時における mRNA ポリ A 鎖伸長調節機構

越智 洋絵

多くの動物の卵母細胞は、第一減数分裂前期 (Pro-I 停止) で細胞周期を停止している。Pro-I 停止卵の細胞質には、卵成長過程において合成された母性 mRNA が、翻訳されない不活性型として大量に貯蔵されており、ホルモン刺激を契機として、時期特異的に活性化される。この厳密な翻訳制御は、減数分裂と受精・卵割の正しい進行に不可欠である。本研究では、母性 mRNA 活性化について、それを制御する因子と、mRNA そのものの修飾について解析した。

I. CPEB リン酸化と mRNA ポリ A 鎖伸長調節

母性 mRNA 活性化に関してもっとも詳細に研究されてきたのは、細胞周期を制御する *cyclin B* などにおける翻訳制御機構である。*cyclin B* mRNA の 3'UTR には cytoplasmic polyadenylation element binding protein (CPEB) が結合しており、減数分裂再開後に CPEB のリン酸化が引き起こされる。それにより *cyclin B* mRNA のポリ A 鎖が伸長し、翻訳が活性化することが明らかにされていた。しかしながら“体外”に摘出した卵母細胞を用いて構築されてきた以上のモデルが、実際の“体内”卵成熟、すなわち動物体内でホルモン刺激・卵減数分裂が起きる場合においても同様に適用できるかは明らかでなかった。そこでイトマキヒトデ卵を用い、従来の体外卵成熟に加え、体内卵成熟過程における翻訳活性化機構の検討を行った。

まず体外で、未成熟のイトマキヒトデ卵母細胞に卵成熟誘起ホルモン 1-methyladenine 刺激を与えたところ、確かに CPEB がリン酸化され、*cyclin B* mRNA のポリ A 鎖が伸長した。一方、体内卵成熟を誘起するためにイトマキヒトデ体腔内に 1-methyladenine を注射したところ、Cdk1 による CPEB のリン酸化が起きていたが、*cyclin B* mRNA のポリ A 化は抑制されたままであり、ポリ A 鎖伸長は卵が動物体外に放卵されて初めて開始した。すなわち体内卵成熟においては、CPEB リン酸化はポリ A 鎖伸長開始の十分条件でないことが明らかとなった。

これまでにヒトでの体内卵成熟において、卵が体外に放卵される際に、細胞内 pH の上昇が起きること、また細胞内 pH の変化が細胞周期の進行を制御することが明らかとなっていた。このことから、体内卵成熟においてポリ A 鎖伸長に必要な要素として、CPEB のリン酸化に加え、細胞内 pH の上昇が考えられた。そこで無細胞系を用いて、生理的範囲内で pH を変化させたところ、pH が 7.0 よりも低い場合、CPEB がリン酸化状態にあっても、ポリ A 化が抑制されることが明らかとなった。これは、細胞内 pH の上昇が CPEB のリン酸化に加え、ポリ A 鎖伸長と翻訳開始に必要であることを強く示唆している。

II. mRNA 修飾とポリ A 鎖伸長

一般に、長いポリ A 鎖を有する mRNA は安定で翻訳活性が高く、ポリ A 鎖の短縮は mRNA の不安定化を引き起こすと考えられている。近年、酵母、植物、哺乳類培養細胞において、mRNA の短いポリ A 鎖の 3'末端に数塩基のウリジン塩基が付加されていること、そしてウリジレーションは mRNA 分解の目印として働いていることが多数報告された。ところで卵母細胞の母性 mRNA は、短いポリ A 鎖を持つ翻訳抑制（不活性）型として貯蔵されており、これらのポリ A 鎖が伸長することで翻訳が開始される。他細胞での報告に従えば、卵細胞においても mRNA の短いポリ A 鎖末端がウリジル化を受けているという可能性が考えられるが、卵母細胞における mRNA のウリジル化修飾の有無はこれまでに明らかでなかった。そこで本研究では、母性 mRNA のウリジン修飾に対する検討を行った。その結果 *cyclin B* mRNA 末端がウリジル化を受けていることを、卵細胞において初めて見出した。さらに、他細胞での報告とは異なり、卵細胞においてウリジル化は mRNA の分解を引き起こさないこと、卵成熟後にウリジル化された mRNA の 3'末端が部分的に分解を受け、その後ポリ A 鎖伸長が起きることを明らかにした。この結果は、母性 mRNA の活性化にウリジル化 RNA に対する 3'末端のトリミングが関与していることを強く示唆しているだけでなく、ウリジル化された mRNA が分解されるのではなく再び翻訳に用いられることをはじめて証明したものである。