

様式3

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 3 年 4 月 1 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 公立大学法人福島県立医科大学
職 名 准教授
研究代表者 井上 直和

下記のとおり令和 2 年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号:19014)

1. 共同研究課題名	哺乳類の配偶子融合における顆粒分泌と膜タンパク質代謝メカニズムの解析			
2. 共同研究目的	我々は、精子のオルガネラ崩壊（先体反応）によって局在が変化する膜タンパク質（IZUMO1）と、卵子側の受容体（JUNO）の相互作用が配偶子融合に必須であることや、その活性化の仕組みを分子レベルで明らかにしてきた。本研究では、受精前後でダイナミックに変化する配偶子の詳細な解析を通して、受精の包括的な分子機構を明らかにする。本研究成果は、受精の新たなドグマを提唱するだけでなく、オルガネラや顆粒の分泌によって膜上の因子を代謝・制御する新たな分子制御メカニズムの発見に繋がる可能性がある。			
3. 共同研究期間	令和 2 年 4 月 1 日 ~ 令和 3 年 3 月 31 日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属部局等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 井上 直和	医学部附属生体情報伝達 研究所細胞科学研究部門	准教授	研究の総括・ベクター構築	
(分担研究者) 佐藤 裕公	生体調節研究所 細胞構造分野	准教授	解析・観察	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	細胞構造	氏 名	佐藤 健

※ 次の6, 7, 8の項目は、枠幅を自由に変更できます。但し、6, 7, 8の項目全体では1頁に収めて下さい。

6. 共同研究計画

- ① IZUMO1 および JUNO と共局在する、あるいは直接的に相互作用する分子群について、それらを蛍光タンパク質でラベルし、配偶子上に発現させ、受精前後における動態を生細胞イメージングにより解析する。また我々がこれまでに作製した蛍光 IZUMO1 および JUNO を同時に観察することで、新しく同定された因子群との関連性を浮き彫りにする。
- ② 哺乳類の卵子には表層顆粒が細胞膜直下に大量に存在し、受精後に起こる細胞内 Ca^{2+} 濃度上昇により、これらが一斉に分泌し、透明帯の性質を変化させる。一方、JUNO は受精後直ちに（表層顆粒放出よりも早く）卵子の表面から消失する（JUNO による代謝メカニズム）。卵子は少なくともこの2段階で多精子受精を防いでいる。我々が開発した、分泌顆粒をほとんど持たない遺伝子改変マウスの卵子を用いて、受精後の JUNO の動態を観察することで、顆粒分泌と JUNO の消失の関連性を明らかにする。

7. 共同研究の成果

本研究の解析過程で卵子側の融合因子 CD9 が JUNO などの GPI アンカー型タンパク質を、染色体近傍にある卵子表層の皮質アクチンキャップに配置しないようにする「分子区画化」に積極的に関与していることを明らかにした。つまり正常な状態では、皮質アクチンキャップに存在しないはずの受精に関わる因子群が、CD9 欠損卵子ではそこに漏れ出し、正しい区画化が行われぬ異常な状態に陥る。その結果、精子が染色体付近に侵入するリスクが増大する。この研究結果から、CD9 によって制御されるタンパク質、例えば JUNO の卵子上の局在を調べることで女性不妊症の診断基準として有効であることが示唆された (Inoue, N et al., *Development* 2020)。このほか、佐藤准教授と佐藤教授は CD9 の立体構造解析により、CD9 が細胞膜構造に強い曲率をもたらし、膜融合に積極的に関与する新しい概念を提唱した (Umeda, R., Satouh, Y., et al., *Nat Commun* 2020)。

8. 共同研究成果の学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換（本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等を記載して下さい。なお、論文の場合は、別刷りを1部提出してください。）

- ① 本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文
Inoue, N., Saito, T., Wada, I. Unveiling a novel function of CD9 in surface compartmentalization of oocytes. *Development* 2020, 147(15). (Acknowledgements に記載あり)
- ② この共同研究に基づくとの記載のある論文
Inoue, N., Saito, T., Wada, I. Unveiling a novel function of CD9 in surface compartmentalization of oocytes. *Development* 2020, 147(15). (Funding に記載あり)
- ③ 学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)
なし
- ④ 本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)
電子メールや電話による研究打ち合わせを行い、遺伝子組換え動物などの研究リソースの共有や研究の分担方法を協議した。