

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 LIM JONG-CHAN
 学位 博士 (理学)
 学位記番号 新大院博 (理) 第 387 号
 学位授与の日付 平成 26 年 3 月 24 日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 Studies on expression and function of Rdd, a novel secretory protein, in *Xenopus* embryo
 (アフリカツメガエル胚における Rdd 蛋白質の発現と機能の解析)

論文審査委員 主査 教授・前野 貢
 副査 教授・長東 俊治
 副査 教授・内海 利男
 副査 准教授・杉本 健吉

博士論文の要旨

Rdd (repeated D domain-like) は、アフリカツメガエル(*Xenopus laevis*)において発見された、システインに富む繰り返し構造を持つ新規分泌性タンパク質である。これまでに、Rdd 転写物が囊胚期から神経胚期に発現することや、モルフォリノを用いたノックダウン実験から、Rdd は胚における血管形成に関与していることが明らかにされている。本研究では、タンパク質レベルでの Rdd の働きを解明するために、合成ペプチドを抗原として Rdd の抗体を作製した。抗体を用いたウェスタンブロット解析で、約 28kD の内在性タンパク質を検出した。また、ホールマウント抗体染色により、内在性 Rdd タンパク質は尾芽胚において卵黄静脈、体節間組織、鰓弓、筋節に局在して検出された。染色個体の切片標本の観察から、Rdd タンパク質は主に中胚葉領域に局在していることがわかった。抗体染色から、Rdd が血管だけではなく、神経冠や筋節のような別の移動性細胞においても局在していたので、Rdd モルファントにおける神経冠および腹部筋節の分化や移動を調べた。Rdd モルフォリノを注入すると、神経冠と腹部筋節マーカーの発現が減少した。また、神経冠の移植実験においてドナー胚に Rdd モルフォリノを注入すると神経冠の移動が見られないことから、Rdd は移動性細胞の分化や移動に関与することが示唆された。さらに、抗体を用いて移動性細胞と Rdd タンパク質の局在との関連性を検証したところ、血管内皮増殖因子 VEGF の発現を抑制した胚と神経冠マーカーである Neptune の発現を抑制した胚において Rdd タンパク質の局在が消失した。最後に、Rdd の RNA 発現パターンとタンパク質局在パターンとの違いを解明するために、リコンビナントタンパク質を用いた生化学的な解析を行った。それにより、分泌された Rdd タンパク質は、細胞間領域に存在することが示された。以上のことを総合すると、Rdd タンパク質は分泌された後、尾芽胚において胚体内を移動する複数の細胞に局在し、それらの組織分化に関与することが示された。

審査結果の要旨

論文タイトル：

Studies on expression and function of Rdd, a novel secretory protein, in *Xenopus* embryo
(アフリカツメガエル胚における Rdd 蛋白質の発現と機能の解析)

脊椎動物胚の発生は、さまざまな分泌因子を介した細胞間相互作用により制御されている。胚の腹側において心臓、血管、尿管が最初に分化してくる。これらの器官が分化する際には、最初に BMP シグナルが重要な働きをすることが明らかにされているが、BMP シグナルの下流でどのような因子が器官分化に関わっているかの詳細はわかっていない。本論文により解析された Rdd は、2008 年に両生類胚において新たに発見された分泌蛋白質であり、この因子の発現をノックダウンした胚では血管形成が正常に行われない。本論文では Rdd に対する抗体を作成し、これを用いて Rdd 蛋白質の胚体内分布を調べ、Rdd は血管、神経冠、移動性筋節が分化する場所に局在していることを見いだした。さらに、Rdd 蛋白質の分布と合致して、Rdd ノックダウン胚ではこれら複数の細胞の移動が妨げられていることもわかり、胚体内を移動する細胞における Rdd の本質的な役割が新たに明らかにされた点で、重要な研究成果であると評価される。

主論文の内容は、申請者筆頭著書として、*Anatomy and Cell Biology* に掲載が決定している。

以上のことを総合して、本論文は、博士論文（理学）として十分な内容を有すると判定された。