

本研究は、胚発生期に発現する二つの酵素について、アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*) を用いて解析を試みたものである。まず、アフリカツメガエルの胚発生に関わるプロテアーゼの探索をおこなった。また、アデノシンデアミナーゼ活性を持つ細胞増殖因子、Insect-derived growth factor (IDGF) のアフリカツメガエルホモログを同定した。

筆者はセリンプロテアーゼの胚発生における関与を知るために、胚を培養している培地に各種の合成基質を添加して、胚発生への影響を調べた。その結果、33種類の合成基質のうち5種類の基質が胚発生を阻害することを見出した。この結果はこれらの合成基質を水解するセリンプロテアーゼがアフリカツメガエルの胚発生に必要であることを示唆している。

次に、培地に添加したこれら5種類の合成基質が胚発生を時期特異的に阻害するかどうかを検討した。結果として、時期特異性は大きく分けて3種類に分類された。そのなかで、時期特異性が顕著で、原腸胚期に特異的に胚発生を阻害する基質、Pyroglutamyl-RTKR-MCA について、水解酵素の精製をおこなった。比活性210倍にまで精製したフラクションを用いてプロテアーゼ活性を検出した結果から、この画分が含有するプロテアーゼがプロテアソームであることが強く示唆された。

そこで、プロテアソームの胚発生への関与を知るために、胞胚期のツメガエルの培地にプロテアソーム阻害剤を添加して胚発生への影響を調べた。プロテアソーム阻害剤 MG-115 及び MG-132 を添加すると、胚の体軸形成、及び尾芽の伸長に異常が生じることが分かった。このことから、アフリカツメガエルの胚発生に関

して、プロテアソームが必要であることを示した。

次に、IDGF のアフリカツメガエルホモログである、XIDGF-A,B の cDNA を単離した。XIDGF-A は 513 アミノ酸、XIDGF-B は 510 アミノ酸をコードしており、これらの配列の中には ADA 活性領域が保存されていた。XIDGF-A、B とともに IDGF と 40% の相同性を示したことから、IDGF のアフリカツメガエルホモログであると判断した。

アフリカツメガエル IDGF ホモログが胚発生過程において発現しているかどうかを知るために、RT-PCR をおこなった結果、胚発生にともなって神経胚期に発現が上昇することを見出した。さらに、胚発生過程における発現の局在を知るために、*in situ* hybridization をおこなった。結果として XIDGF がアフリカツメガエルの胚発生期に、体節、セメント腺や前腎等で局所発現していることを示した。

以上、本研究はプロテアソームがアフリカツメガエルの胚発生に必要なこと、及び細胞増殖因子 IDGF のホモログ (XIDGF-A, B) がアフリカツメガエルの胚発生期に局所発現していることを示したものである。不可逆的な反応を触媒する酵素群に着目するという独創的な視点で胚発生にアプローチした研究で、発生生物学に寄与するところがあり博士 (薬学) に値すると判断した。