

修士論文の和文要旨

研究科・専攻	大学院 電気通信 学研究科 量子	子・物質工学	専攻 博士前期課程
氏 名	高橋 徹	学籍番号	0733031
論 文 題 目	文 題 目 マウス受精卵のカルシウム振動に関与するカルシウム流入経路の 薬理学的特性		

《背景・目的》

哺乳類の受精卵では周期的な細胞内 Ca^{2+} 濃度の上昇反応 $(Ca^{2+}$ オシレーション)が起こり、卵が賦活化される。個々の一過性の Ca^{2+} 上昇は細胞内 Ca^{2+} ストアである小胞体から Ca^{2+} が放出されることによって生じる。一方 Ca^{2+} オシレーションの維持には細胞外からの Ca^{2+} の流入が必要であると考えられているが、その詳しいメカニズムは解明されていない。本研究は、哺乳類受精卵における Ca^{2+} オシレーションの維持に関わる Ca^{2+} 流入経路の同定のための第一段階として、主として Ca^{2+} チャネル阻害剤を用いた阻害実験により、 Ca^{2+} 流入経路の特性を明らかにすることを目的として行った。

《実験方法》

fura-2によるCa²⁺イメージング法を用いて、マウス成熟卵に対し以下の実験を行った。

- 1. 受精時の Ca²⁺オシレーションが発生している最中に細胞外 Ca²⁺濃度を変え、そのときのオシレーションの変化を調べた。同様に、各種 Ca²⁺チャネル阻害剤を細胞外に投与したときの効果について調べた。
- 2. Mn^{2+} -quenching 法または Ba^{2+} を細胞外に投与する方法により、受精卵の Ca^{2+} オシレーション中の Ca^{2+} 流入速度を半適量的に測定し、解析した。
- 3. 受精時の Ca^{2+} 流入、および thapsigargin 処理による Ca^{2+} ストアの枯渇で活性化されるストア作動性 Ca^{2+} 流入について、各種 Ca^{2+} チャネル阻害剤の阻害効果を調べた

《結果・考察》

- 1. 受精時の Ca^{2+} オシレーションの頻度は、細胞外 Ca^{2+} 濃度に対して強い正の依存性を示した。また、 Ca^{2+} オシレーションは細胞外の Gd^{3+} や La^{3+} によって顕著に阻害されたのに対し、SKF96365 や 2-APB などの阻害剤では阻害されなかった。
- 2. 受精時の Ca²⁺オシレーション中は、静止時に比べ Mn²⁺や Ba²⁺の流入速度が増加しており、何らかの Ca²⁺流入経路が活性化されていることが示唆された。また、オシレーション頻度が高い卵ほど流入速度が速いこと、Ca²⁺放出と同期して Ca²⁺流入も周期的に変化していることも示唆された。
- 3. Ca^{2+} オシレーション中に活性化される Ca^{2+} 流入は、 Gd^{3+} や La^{3+} により抑制されが、SKF96365 では 阻害されなかった。また、thaps i garg in 処理でマウス卵に誘発されるストア作動性 Ca^{2+} 流入も、これらの阻害剤に対して同様の薬理学的特性を示した。

以上の結果より、マウス受精卵では Ca²⁺ストアの再充填のために Ca²⁺流入が促進されること、 また、おそらくそれはストア作動性 Ca²⁺チャネルを介したものであることが示唆された。Ca²⁺流入 チャネルの実体やその詳しい制御機構については、今後の実験で明らかにする必要がある。