

## 受精のメカニズムの一端を解明

### 1. 発表者：

加藤 一希（東京大学理学系研究科生物科学専攻 大学院生（研究当時））

佐藤 裕公（大阪大学微生物病研究所 助教）

西増 弘志（東京大学理学系研究科生物科学専攻 助教）

石谷 隆一郎（東京大学理学系研究科生物科学専攻 准教授）

伊川 正人（大阪大学微生物病研究所 教授）

濡木 理（東京大学理学系研究科生物科学専攻 教授）

### 2. 発表のポイント：

- ◆ 受精に必須の JUNO タンパク質の結晶構造を決定した。立体構造に基づく変異体解析により、卵子（JUNO タンパク質）が精子（IZUM01 タンパク質）と結合するメカニズムの一端を原子レベルで解明した。
- ◆ JUNO 欠損マウス由来の卵子を用いた解析手法を確立し、変異体解析を行い、IZUM01 に結合する JUNO のアミノ酸残基を同定した。
- ◆ 本研究は受精のメカニズムの解明につながることを期待される。

### 3. 発表概要：

卵子と精子の細胞融合（注1）は哺乳類の受精において必須のステップであり、卵子の細胞膜上の JUNO タンパク質が精子の細胞膜上の IZUM01 と結合することにより引き起こされます。今回、東京大学大学院理学系研究科の加藤一希大学院生（研究当時）、西増弘志助教、濡木理教授、大阪大学の佐藤裕公助教、伊川正人教授らの研究グループは、JUNO タンパク質の結晶構造を決定しました。JUNO の立体構造から IZUM01 との相互作用に関わる部位を推定し、JUNO 欠損マウスに由来する卵子を用いた変異体解析を行い、JUNO と IZUM01 との相互作用に重要な領域を明らかにしました。本研究成果は、哺乳類における受精のメカニズムの理解につながることを期待されます。

### 4. 発表内容：

#### 背景

受精は新しい生命が誕生するために必須の生命現象であり、卵子と精子が細胞融合する

ことにより開始します。細胞融合の最初のステップである卵子と精子の接着を担っているのが卵子の細胞膜上に存在する JUNO タンパク質と精子の細胞膜上に存在する IZUM01 タンパク質です (図 1)。JUNO あるいは IZUM01 のいずれかを欠損したマウスは不妊となることから、JUNO と IZUM01 の結合は受精に必須であることがわかっていました。しかし、JUNO と IZUM01 がどのように結合するかは不明でした。

## 今回の内容

今回、本研究グループは、JUNO の構造と機能を詳細に調べました。まず、マウス由来の JUNO タンパク質を結晶化し、SPring-8 において X 線結晶構造解析を行い、JUNO の結晶構造を 2.3 Å 分解能で決定しました (図 2)。JUNO の立体構造は葉酸受容体 (注 2) に似ていましたが、葉酸の結合にかかわる部分の構造は異なっていました。これは、JUNO は葉酸とは結合しないという性質と一致していました。

次に JUNO と葉酸受容体の構造を比較することにより、IZUM01 との相互作用に関わる JUNO のアミノ酸残基を推定しました。これらのアミノ酸残基が受精に重要なかを確認するために、CRISPR-Cas9 システム (注 3) を用いて JUNO を遺伝的に欠損したマウスを作製し、JUNO 欠損マウス由来の卵子を用いた新規の実験系を確立しました (図 3)。JUNO を欠損した卵子は、マウス由来の精子と融合しなくなりますが、この卵子に JUNO 遺伝子を導入すると、精子と細胞融合が引き起こされました (図 3)。この実験系を用いてさまざまなアミノ酸に変異を持つ JUNO の遺伝子を導入し、精子との融合を観察したところ、JUNO の 62 番目のトリプトファン残基 (W62) が精子との結合に重要であることが明らかとなりました (図 3)。したがって、JUNO は W62 を介して IZUM01 と相互作用していることが示唆されました (図 4)。

## 意義

本研究においては、JUNO の結晶構造を決定し、JUNO の W62 が卵子と精子の結合に重要であること初めて明らかにしました。さらに、今回確立した JUNO 欠損マウスを用いた解析手法は、受精のメカニズムの全容解明に向けた今後の研究においても有用なツールとなることが期待されます。

## 5. 発表雑誌：

雑誌名：「*Nature Communications*」(7月第二週にオンライン版に公開予定)

論文タイトル：「Structural and functional insights into IZUM01 recognition by JUNO in mammalian fertilization」

著者：加藤一希<sup>1\*</sup>、佐藤裕公<sup>2\*</sup>、西増弘志<sup>1\*</sup>、倉林亜理沙<sup>1</sup>、森田純子<sup>1</sup>、藤原祥高<sup>2</sup>、大字亜沙美<sup>2</sup>、石谷隆一郎<sup>1</sup>、伊川正人<sup>2†</sup>、濡木理<sup>1†</sup>

\*共同筆頭著者、†責任著者

<sup>1</sup>東京大学大学院理学系研究科、<sup>2</sup>大阪大学微生物病研究所

## 6. 用語解説：

注1 細胞融合

2つの細胞が融合して1つの細胞になる現象。受精においては、精子と卵子が融合し受精卵となる。

注2 葉酸受容体

ビタミンの1種である葉酸の取り込みを担う受容体タンパク質。JUNO に類似した構造をもつが、IZUM01 とは相互作用しない。

注3 CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats / CRISPR associated proteins)

Cas9 タンパク質とガイドRNA を用いて2本鎖DNA を切断しゲノム情報を改変する技術。

9. 添付資料：

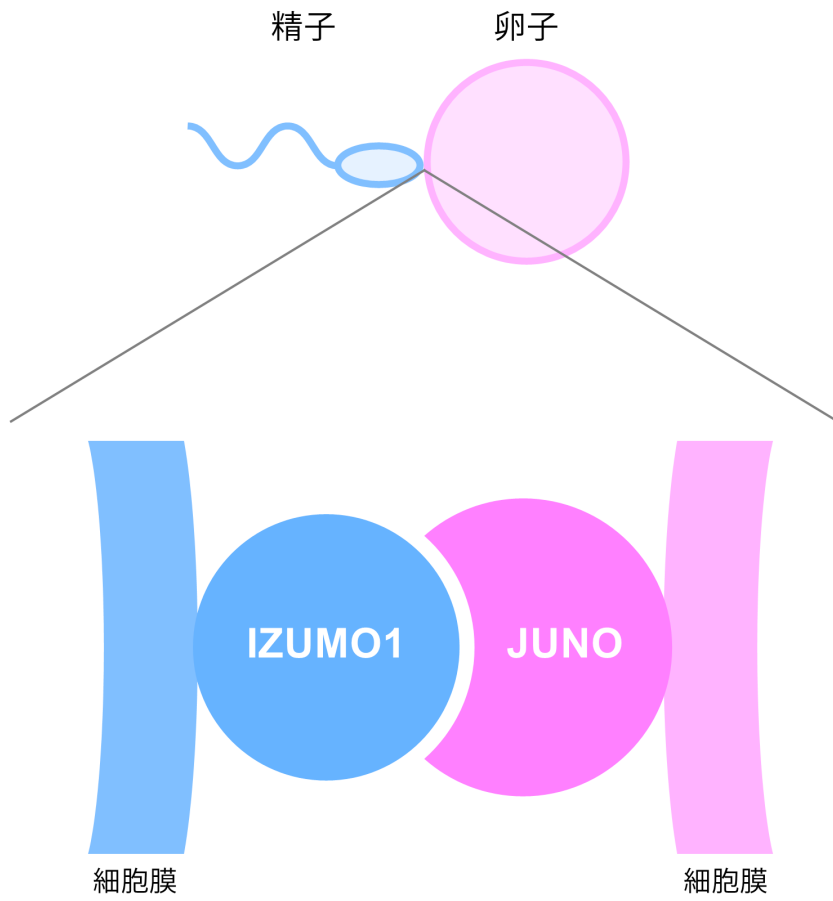


図1 哺乳類における受精の模式図

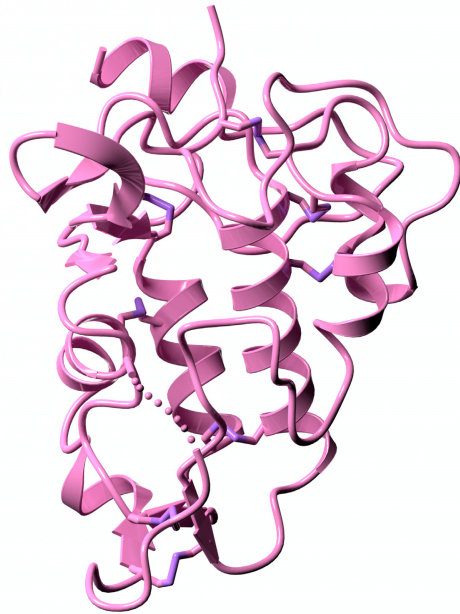


図2 JUNOの結晶構造

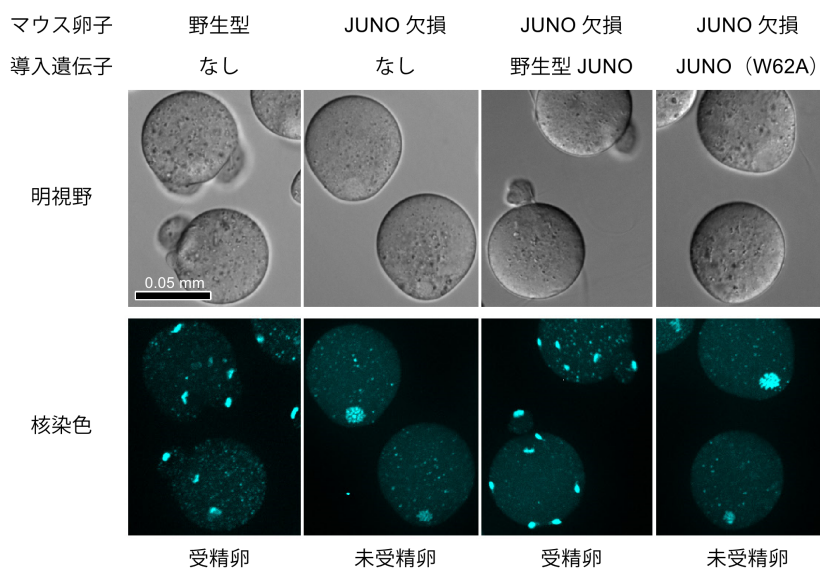
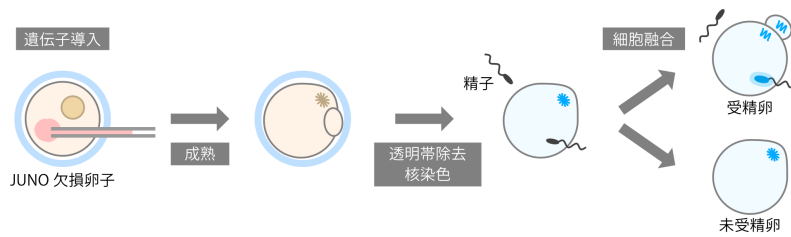


図3 JUNO欠損マウス卵子を用いた変異体解析

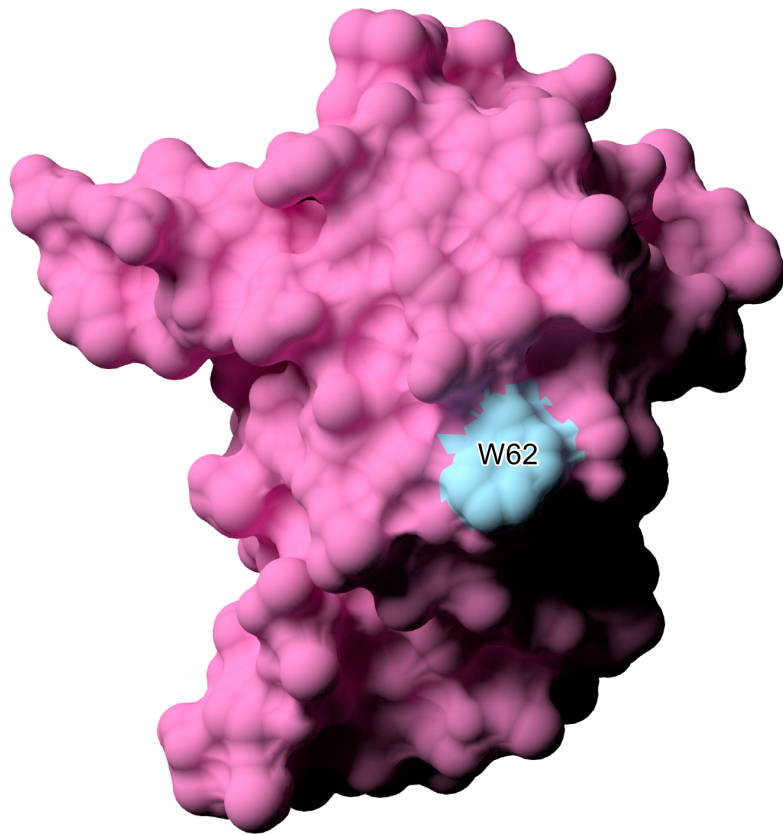


図4 JUN0の分子表面