

氏名	やま だ りき し 山 田 力 志
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 3050 号
学位授与の日付	平 成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	Embryonic expression profiles and conserved localization mechanisms of <i>pem</i> -like mRNAs of two species of ascidian, <i>Ciona intestinalis</i> and <i>Ciona savignyi</i> . (ホヤ母性遺伝子の網羅的解析：2種のホヤにおける <i>pem</i> -like 遺伝子群の同定と解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 米 井 脩 治 教 授 片 山 一 道

論 文 内 容 の 要 旨

多細胞動物の発生においては、ただ1個の細胞である受精卵から、さまざまな機能を持った組織細胞が分化する。この過程において、卵細胞質に蓄えられた母性因子が重要な役割を果たすことが多くの動物で知られており、モザイク的発生様式を示すホヤにおいても同様である。本論文では、ホヤの初期胚における母性遺伝子の役割を明らかにする目的にそって、胚内での母性遺伝子の転写産物の局在パターンを同定するなど、それらの遺伝子の網羅的解析を行った。

まず、8細胞期胚における母性遺伝子の転写産物の局在パターンを明らかにするため、単離割球を用いたマイクロアレイ解析を行った。その結果、植物半球後側にその転写産物の局在を示す17個の遺伝子 (*pem*-like 遺伝子) と、ミトコンドリアに類似した局在を示す2つの遺伝子を得た。また、この網羅的解析においては、母性遺伝子の8細胞期における発現パターンは、これら2つの局在パターンのみであった。

pem-like な局在を示す遺伝子群の研究は、初期胚における軸決定、生殖細胞分化決定や筋肉分化決定といった機能面の解明および mRNA 局在メカニズムの解明など多くの側面を持つ。そこで次に、カタユウレイボヤとユウレイボヤの2種において、*pem*-like 遺伝子群を同定し、胚発生期における発現パターンの解析を行った。カタユウレイボヤにおいて、上記解析で同定した17個の遺伝子に既知の遺伝子を加え合計37個の遺伝子の発現パターンの解析を行った結果、10個の遺伝子の転写産物が B8.11 細胞に加えて B8.12 細胞に局在することが観察された。B8.11 細胞は予定始原生殖細胞と考えられるので、これらの遺伝子は生殖細胞の形成に関与していると思われる。また、カタユウレイボヤ *pem*-like 遺伝子と相同な遺伝子を近縁種ユウレイボヤにおいて23個同定し、カタユウレイボヤの場合と同様な発現パターン解析を行ったところ、16個の遺伝子で *pem*-like な転写産物の局在が観察された。

さらに、カタユウレイボヤの *Ci-Wnt5* とユウレイボヤの *Cs-Wnt5*、およびカタユウレイボヤの *Ci-ZF1* とユウレイボヤの *Cs-ZF1* を使い、それらの3' UTR を持つ外来 mRNA を、両種の卵に顕微注入してその局在を観察する実験を行った結果、両種間において mRNA 局在メカニズムが保存されていることが明らかになった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

動物の初期発生における体軸の構築や細胞の特殊化に、卵形成時に転写され卵細胞質に局在する mRNA が重要な働きをすることが、主としてショウジョウバエで調べられている。しかし、それ以外の動物、とくに脊索動物の母性 mRNA の局在機構とその機能についてはまだ不明な点が多い。ホヤは古くからモザイク的発生様式を示す動物として知られており、卵内に局在する母性 mRNA がその発生に重要な役割を果たすと考えられてきた。本論文で申請者は、ホヤを使って、その mRNA が一定の局在パターンを示す母性遺伝子の網羅的解析を行っている。

これまでの研究から、初期胚の動物極側、植物極側、および植物半球後側に局在する細胞質情報が予想されていた。申請

者はまず、母性遺伝子の8細胞期胚における mRNA の局在パターンを明らかにするために、割球単離という古典的実験法とマイクロアレイという新しい技法を駆使して解析を行っている。そして、その mRNA が植物半球後側に局在を示す17個の遺伝子 (*pem*-like 遺伝子) と、ミトコンドリアに類似した局在を示す2つの遺伝子を明らかにした。これはマイクロアレイという新技法を駆使した研究成果として評価できる。そして、この2つ以外の局在パターンが認められないことから、申請者は母性遺伝子の8細胞期における発現パターンがこれら2つの局在パターンに限られると結論づけた。

これまで、ホヤの局在 mRNA については異なったホヤで幾分異なった情報が得られていた。また、mRNA が植物半球後側に局在を示す遺伝子は、初期胚における軸決定や筋肉分化決定のみならず始原生殖細胞の分化にも重要な働きをする。そこで申請者は、カタユレイボヤとユレイボヤの2種においてできるだけ多くの *pem*-like 遺伝子群を同定し、胚発生期における発現パターンの解析を加えた。すなわち、カタユレイボヤにおいて上記解析で同定した17個の遺伝子を加えた合計37個の遺伝子の発現パターンを解析した結果、10個の遺伝子の mRNA が予定始原生殖細胞割球に局在することを確かめた。これらの遺伝子は生殖細胞の形成に関与していると考えられる。

また、カタユレイボヤ *pem*-like 遺伝子と相同な遺伝子を近縁種ユレイボヤにおいて23個同定し、同様にそれらの発現パターン解析を行ったところ、16個の遺伝子で *pem*-like な局在が観察された。そして、*Wnt5* および *ZF1* に関しては、その3' UTR による mRNA の局在メカニズムが両種間において保存されていることを明らかにした。これら一連の研究は、脊索動物における母性局在 mRNA の発現と機能に関する重要な知見をもたらしたものとして評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。