

氏名	かた 片 おか 岡 よう 陽 へい 平
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 2356 号
学位授与の日付	平成 13 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 生物学専攻
学位論文題目	<i>dAGO1</i> 遺伝子の発生過程における役割と分子機能の追究

論文調査委員 (主査) 教授 上村 匡 教授 竹市雅俊 教授 宮田 隆

論 文 内 容 の 要 旨

ショウジョウバエの翅の形態形成過程に着目した Wingless(Wg) シグナル伝達系に関わる遺伝子の探索の結果、シロイヌナズナの葉の形態形成に関わる *Argonaute1* (*AGO1*) 遺伝子のショウジョウバエホモログ *dAGO1* 遺伝子とその候補として同定した。*AGO1* 類似遺伝子は、ほとんどの真核生物において同一種内に複数存在し、大きな分子ファミリー(*AGO1* 遺伝子ファミリー, *AGO1* ファミリー)を成す。近年、この *AGO1* ファミリーに属するいくつかの遺伝子は、幹細胞の自己再生分裂 (self-renewal division) や二本鎖 RNA 干渉 (RNAi)、翻訳開始反応に関与することが示唆された。この分子ファミリーに属する分子はカルボキシル末端付近に高度に保存された領域を持つが、その分子機能は明らかにされていない。そこで、我々は、*dAGO1* 遺伝子の発生過程における役割と分子機能の解明に向けて、ショウジョウバエの分子遺伝学的手法を駆使した解析を開始した。

dAGO1 遺伝子は、*DE-cad* との共過剰発現実験の結果から、Wg シグナル伝達系に正に働く因子と予想された。しかし、*dAGO1* 遺伝子の変異胚は、Wg シグナル関連遺伝子の変異胚に特徴的な体節極性形成 (segment polarity formation) の異常を示さなかった。この結果は、少なくとも胚期において *dAGO1* は Wg シグナル伝達系に関与していない可能性を示唆する。一方、その変異胚は神経系に激しい異常が生じて致死となる。中枢神経系及び末梢神経系において神経細胞とグリア細胞の著しい減少が観察され、ニューロblastやグリオblastの細胞分裂に異常が生じていると考えられた。しかし、この表現型と Wg シグナル伝達系との関係は明らかではない。また、*dAGO1* の全長分子や改変分子を翅で過剰発現させたところ、翅の形態や翅脈形成に異常が生じた。この結果は、*dAGO1* 遺伝子が翅のパターン形成過程において何らかの機能を果たしている可能性を示唆する。そこで、これらの表現型について、遺伝学的相互作用の検討や免疫組織染色法により *dAGO1* が作用しているシグナル伝達経路の特定を試みた。しかし、Wg シグナル伝達系だけでなく、その他のシグナル伝達系についても、*dAGO1* の関与を示す有力な手がかりは得られなかった。

分子機能の特定を目的とした生化学的実験の結果、*dAGO1* 分子は RNA 分子に結合可能な事が明らかになった。この発見は分子機能の解明に向け重要な手がかりとなると期待された。しかし、その結合には機能的中心と予想された保存領域は必要ないことが確認され、*dAGO1* 分子の RNA 分子への結合が機能的な結合であるのか、また、RNA 分子への結合が *AGO1* ファミリー共通の機能であるかは確認できていない。

この論文では、*dAGO1* 遺伝子の発見から機能解析に至る研究成果を報告する。また、*AGO1* 遺伝子ファミリーの働きについて、近年同定された様々な類似遺伝子の解析の結果や機能予測も交えて議論する。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者は、ショウジョウバエの翅の形態形成過程に着目した Wgless (Wg) シグナル伝達系に関わる遺伝子の探索の結果、シロイヌナズナの葉の形態形成に関わる *Argonaute1* (*AGO1*) 遺伝子のショウジョウバエホモログ *dAGO1* 遺伝子を

その候補として同定した。*dAGO1* 遺伝子は、大きな分子ファミリー (*AGO1* 遺伝子ファミリー) の一員であるが、その分子機能は全く明らかにされていなかった。そこで申請者は、*dAGO1* 遺伝子の Wg シグナル伝達系との関係の解明と、発生過程における役割と分子機能の追究の為、ショウジョウバエの分子遺伝学的手法を駆使した解析を行った。

まず申請者は、過剰発現実験の結果から、*dAGO1* 遺伝子は Wg シグナル伝達系に正に働く因子と予想した。しかし、*dAGO1* 遺伝子の変異胚は、Wg シグナル関連遺伝子の変異胚に特徴的な表現型を示さなかった事から、少なくとも胚期において *dAGO1* Wg シグナル伝達系に関与していないと考えた。

次に申請者は、*dAGO1* 変異胚の神経系に異常を見出し、その原因を調べるために詳細な解析を行った。その結果、中枢神経系及び末梢神経系において神経細胞とグリア細胞の著しい減少を確認し、さらにその異常がニューロblastやグリオblastの細胞分裂の異常であることを突き止めた。申請者は、その神経系の表現型と類似遺伝子の解析の結果から、神経母細胞やグリア母細胞の幹細胞としての維持機構に異常が生じていると予想している。

さらに申請者は、分子機能の特定を目的とした生化学的実験から、*dAGO1* 分子は RNA に結合する可能性を指摘した。そして、その結合には機能的中心と予想される保存領域が必要ないことを確認した。*dAGO1* 分子の RNA への結合が分子機能を反映しているのか、また、RNA への結合が *AGO1* ファミリー共通の機能であるかは確認できていないが、この発見はこのファミリーの分子機能の解明に向け、重要な手がかりとなると期待される。

本論文は、初めて *dAGO1* 遺伝子の発生過程における役割を追及し、神経発生に極めて重要な役割を果たしている事を発見した。また、その分子機能として RNA 結合能を見出し、今後の *AGO1* 遺伝子ファミリーの分子機能の解明の手掛かりを与えた。よって、申請論文は理学博士の学位論文として価値あるものと認められる。

平成13年2月5日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。