

氏 名	植 木 龍 也 <small>うえ き たつ や</small>
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学位記番号	理 博 第 1624 号
学位授与の日付	平 成 7 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 動 物 学 専 攻
学位論文題目	ホヤ胚における表皮細胞特異的遺伝子群の構造と発現

論文調査委員 (主 査) 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 村 松 繁 教 授 西 田 利 貞

論 文 内 容 の 要 旨

ホヤ胚における表皮細胞の分化は、細胞間相互作用を必要とせず自律的に起こる。本論文は、この自律的分化をもたらす分子メカニズムを解明する目的で、表皮細胞で特異的に発現する遺伝子を単離して解析したものである。

申請者はまず、表皮細胞の分化形質のみを発現することが知られているマボヤ卵割阻害1細胞胚を利用して、この胚で特異的に発現する8種類の異なる遺伝子のcDNAクローンを単離して調べたところ、これらの遺伝子はいずれも正常胚の表皮細胞で特異的に発現するものであった。次にノーザンブロット解析によってこれらの遺伝子の時間的発現様式を調べたところ、これらの遺伝子の時間的発現様式は、母性転写産物の有無、変態開始後の転写産物の有無という2点を基準にして、転写産物が(1)未受精卵および初期胚には存在せず、囊胚期に初めて現れて変態開始後消える、(2)未受精卵および初期胚には存在せず、囊胚期に現れ変態開始後も存在する、(3)未受精卵および初期胚にわずかに存在し、囊胚期に増加して変態開始後に消える、(4)未受精卵および初期胚にわずかに存在し、囊胚期に増加して変態開始後も存在し続ける、という4タイプに分類されることを明らかにした。申請者はそれぞれを代表する遺伝子を選び、HrEpiA, B, C および D と名付けた。

ホヤの表皮細胞の系譜は完全に解明されている。そこで申請者は、ザイゴティックに発現する HrEpiA と B の 2 つの遺伝子の cDNA をプローブとして、初期胚から単離した予定表皮細胞および予定非表皮細胞から発生した部分胚、さらには単離割球由来の卵割阻害胚を用いて、表皮細胞の分化が自律的に起こることを特異的遺伝子発現のレベルで証明した。

申請者は次に、HrEpiB と D について、正常胚から再単離した全長に近い cDNA の塩基配列を決定した。その結果、HrEpiB 遺伝子産物はある種のイソメラーゼと類似性があり、また HrEpiD 遺伝子産物は ER 膜の構成成分で分泌蛋白質の ER 内腔への輸送に必須な因子である Sec 61 蛋白質のホモログであるこ

とがわかった。

申請者はさらに、ゲノムライブラリーより HrEpiB と D の 2 つの遺伝子を単離し、その組織特異的発現に関わる 5' 上流領域を解析した。転写開始点を +1 として、HrEpiB 遺伝子では上流 -345 塩基対までの領域に、また HrEpiD 遺伝子では -166 塩基対までの領域にレポーター遺伝子 (*lacZ*) を結合した融合遺伝子を作ってマボヤ受精卵に導入したところ、レポーター遺伝子はどちらも囊胚後期頃から表皮細胞で特異的に発現することがわかった。すなわち組織特異的発現はこれらの領域によって制御されていると思われる。そしてさらにこれらの領域の塩基配列を決定して比較したところ、2 つの遺伝子の間に共通の塩基配列が多く見い出された。申請者は、これらの配列が表皮細胞特異的発現に関わっている可能性が高いと考え、その特異性の検討をさらに進めている。

論文審査の結果の要旨

ショウジョウバエを中心とした体制の構築に関与する遺伝子群の最近の研究から、この動物の基本的な体制の構築は転写制御因子をコードする遺伝子のカスケードによってもたらされることが示されている。したがって、脊椎動物などにおいても同様なカスケードが存在するか否かは、今後解明すべき重要な研究課題である。脊索動物のホヤは典型的なモザイク的発生を行い、表皮、筋肉、消化器系の分化は卵の特定の細胞質領域に局在する分化決定因子によってもたらされると考えられている。ホヤ胚における表皮細胞はその他の細胞型に比べて細胞数も多く、こうした決定因子 (転写制御因子) による分化メカニズムを明らかにする上で格好の研究材料と考えられてきた。しかし研究を進めるためには表皮細胞特異的に発現する遺伝子の cDNA クローンを得なければならない。

申請者はまず、ホヤの受精卵をその卵割を阻害したまま発生させると表皮細胞の分化マーカーのみを発現するというこの系の特徴を利用して、卵割阻害 1 細胞胚で特異的に発現するお互いに異なる cDNA クローンを 8 種類単離した。そしてこれらの cDNA クローンに対応する mRNA が正常尾芽胚にも存在し、いずれも表皮細胞に特異的に発現することを確かめた。したがって、表皮細胞の分化にともない少なくとも 8 つの構造遺伝子が働いている。次にこれらの 8 つの遺伝子の時間的発現様式を調べたところ、これらは母系転写産物の有無、変態後の転写産物の消失を基準に 4 つのタイプに分類されることがわかった。申請者はさらに、2 つの遺伝子を使って、これらの遺伝子の発現が他の細胞との相互作用を必要とせず、自律的に起こることを実験的に証明した。

申請者は次に、HrEpiB がイソメラーゼやエピメラーゼと類似性を持つこと、また HrEpiD は ER 膜を介した分泌タンパク質の輸送に関与する Sec 61 のホモログであることを明らかにした。そして、これらの遺伝子の特異的発現に関わる 5' 上流域の解析を試みており、この二つの遺伝子の上流域に共通に見られるいくつかの配列を明らかにしている。

このように着実な研究の展開は申請者の研究能力の高さを示すものである。特に、複数の表皮細胞特異的遺伝子の 5' 上流域を解析することによって、共通に見い出される配列を調べようとする研究姿勢は評価される。研究の成果はすでに国際誌に公表されており、これらの遺伝子の発現に関わる転写因子としての分化決定因子の解明が期待されている。

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。

なお、平成7年1月17日、主論文に報告されている研究業績を中心として、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。