

(論文内容の要旨)

発生現象において遺伝子は重要な役割を持ち、その理解には遺伝子機能の研究は不可欠である。遺伝子研究手法の中で、トランスジェニック技術は生体内で任意の遺伝子を発現させることができるだけでなく、順遺伝学的手法への応用も可能なことから、遺伝子機能研究において有効な手段である。ホヤでは発生過程に関わる遺伝子の機能の研究が進んでおり、特にカタユレイボヤ(*Ciona intestinalis*)とユレイボヤ(*Ciona savignyi*)はホヤの中でも研究基盤が整ったよいモデル生物である。ホヤでのトランスジェニック技術は近年まで開発されていなかったが、2003年にカタユレイボヤでトランスポゾン *Minos* がトランスジェニック技術として応用できることが報告された。そこで本研究では、ホヤにおける *Minos* トランスジェニック技術の汎用性と利便性を高めるための技術の改良と、この技術を用いて作製した *Minos* 挿入突然変異体 *balloon* の解析を行った。

論文の第1部では、*Minos* トランスジェニック技術の改良を試みた。その第1章では、*Minos* トランスジェニック技術のユレイボヤへの適応を試みた。その結果ユレイボヤでのトランスジェニック体作製に成功し、この技術がユレイボヤでも有効であることを証明した。ホヤでのトランスジェニック体の作製には、トランスポゾンなどを顕微注入するという技術的熟練と時間のかかる技術を必要とする。そこで第2章では、カタユレイボヤでの *Minos* によるトランスジェニック技術の利便性を高めるため、トランスジェニック体の作製手順にエレクトロポレーション法の導入を試みた。そしてこの方法でもトランスジェニック体作製が可能なことを示した。

論文の第2部では、*Minos* トランスジェニック技術を用いて作製した突然変異体 *balloon* の解析を行った。突然変異体 *balloon* は変態過程の後に成体器官の成長が正常に起こらず、表皮が風船のように膨らむという表現型を示す。解析により、*balloon* では α 2-macroglobulin (α 2m) 遺伝子中に *Minos* が挿入され、 α 2m が正常に翻訳されないことに起因することが明らかになった。ほ乳類での研究から α 2m は免疫に関わる機能を持つとされているが、この結果からカタユレイボヤの α 2m は成体器官や組織の成長に関わる機能を持つと考えられた。

氏 名	松岡 輝実
-----	-------

(論文審査の結果の要旨)

尾索動物カタユレイボヤ(*Ciona intestinalis*)は2002年にそのゲノムが解読され、発生のメカニズムをゲノム科学的に解析するモデル動物として注目されている。カタユレイボヤはさらにその世代時間が約3ヶ月と短く、雌雄同体である上に自家受精が可能なことから、遺伝学的研究手法の導入が強く望まれていた。そして最近になってTc1/*mariner*スーパーファミリーの一員であるトランスポゾン *Minos* がこのホヤで活性をもつことがわかり、*Minos* を用いたトランスジェニック技術の開発や改良と、この技術をもちいた発生遺伝学的研究が進んでいる。

申請者はこのホヤのトランスジェニック技術の開発および改良の研究プロジェクトに比較的早くから参加し、学位論文の第1部においては、以下のような研究成果を得ている。まず、ホヤにおける *Minos* トランスジェニック技術の汎用性と利便性を高めるための技術の改良として、カタユレイボヤで開発されたトランスジェニック技術がその近縁種でありまた発生学研究にもよく用いられているユレイボヤ(*Ciona savignyi*)でも適応できるかどうかを検討し、ユレイボヤでも適応できることを示した。カタユレイボヤでのトランスジェニック体の作製には、トランスポゾンなどを顕微注入するという技術的熟練と時間のかかる技術を必要とする。そこで、申請者はさらに、トランスポゾンなどの導入をエレクトロポレーション法というより簡便な手法で行えないかを検討し、エレクトロポレーション法でもトランスジェニック体を作製できることを示した。しかしながら、エレクトロポレーション法ではかなり効率が下がるので、このさらなる改良が必要であると申請者は議論している。

論文の第2部では、申請者は、*Minos* トランスジェニック技術を用いて作製した突然変異体 *balloon* の解析を行っている。*Minos* の挿入突然変異体の一つに、遊泳幼生が変態して成体器官を形成し成長する過程で、成体器官の成長が正常に起こらず、同時に表皮が風船のように膨らむという表現型を示すものが得られ、その外部形態的特徴から *balloon* (風船) と名づけた。この変異がどのような遺伝子の機能阻害によってもたらされるかを解析したところ、*balloon* 変異体では *α 2-macroglobulin(α 2m)* 遺伝子中に *Minos* が挿入されており、 *α 2m* 遺伝子の翻訳が正常におきていないことが示された。 *α 2m* は主としてマウスでの研究により免疫に関わる機能を持つとされている。申請者は *balloon* 変異体における器官の成長過程などを、特に内柱(脊椎動物の甲状腺と相同)に注目して詳細に調べ、得られた結果から、カタユレイボヤの *α 2m* は成体器官や組織の成長に関わる機能を持つと結論づけている。

学位論文の研究内容はすべて注意深く行われており、得られた結果も説得力のあるものである。論文の一部はすでに国際誌に公表されており、その内容の評価も高い。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。