

|             |                         |
|-------------|-------------------------|
| 氏 名         | むら 村 上 せい 子             |
| 学位(専攻分野)    | 博 士 (理 学)               |
| 学 位 記 番 号   | 理 博 第 2665 号            |
| 学位授与の日付     | 平 成 15 年 3 月 24 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 | ホヤ類における EST の解析         |

論文調査委員 (主 査) 教 授 佐 藤 矩 行 教 授 米 井 脩 治 教 授 西 田 利 貞

### 論 文 内 容 の 要 旨

発生の分子メカニズム理解するためには、どのような遺伝子がどのようなタイミングで発現しているのかを知る必要がある。そこで、本論文では、脊索動物のホヤを対象に、すでに公表されつつある様々な発生段階での EST 情報をもとに、その詳細な解析を行った。

まず、カタユレイボヤの受精卵、卵割期、尾芽胚期、遊泳幼生、幼若体の EST 解析を行い、次のような結果を得た。①発生段階が早いほど多様な遺伝子が発現している。②タンパク質合成関連遺伝子群の発現は、発生が進むほど多くなる。それは、おそらく体を作るためであろうと思われる。③ECM 関連遺伝子の発現は遊泳幼生期で最大となる。④それぞれの発生のステージ、それぞれの器官では、異なった遺伝子セットを使っている。⑤メジャーなトランスクリプトはその発現がそれぞれのステージで最大をむかえる。

次に、ハウスキーピング遺伝子に関する考察を行った。組織特異的な遺伝子の解析が進む一方で非特異的に発現する遺伝子については不明なことが多く、それらに焦点をあてるべく解析を行った。驚くべきことに、発生の全てのステージで発現の認められる遺伝子は3.8%しかなかった。しかも、代謝関連の遺伝子はその1割弱しかなかった。そこで、解糖系と TCA サイクルについて遺伝子の発現を調べたところ、全てのステージで発現している遺伝子は解糖系では約半分、TCA サイクルにいたっては1/5しかなかった。解糖系のない細胞は存在し得ないので、このことは、サイゴティックな遺伝子発現はなくとも、母性に供給されるタンパク質があればよいということを示唆している。さらにこれらの遺伝子の空間的発現パターンをみると、均一にシグナルがみられるものと、全体にシグナルが見られるが、ある組織に特に強くシグナルが見られるものがあることが判った。同じくハウスキーピング遺伝子だと考えられるリボソーマルタンパク質でも、同じような現象が観察された。リボソーマル遺伝子の場合、サブユニットごとにシグナルの強く観察される組織が異なっていた。一つのリボソームには1つずつのリボソーマルタンパク質が使われているため、この現象は非常に興味深い。以上から、今まで発生においてユビキタスと考えられてきたハウスキーピング遺伝子が多様な発現をすることが示唆された。

最後に、無尾幼生を発生させるホヤの尾の形成されないメカニズムを探るべく、*Molgula tectiformis* の EST 解析を行った。このホヤでは脊索形成のキー遺伝子 *Brachyury* や筋肉分化制御因子の一つ *Tbx6* といった遺伝子の発現がみられることは判っていたが、今回の解析では、*Brachyury* に関してその下流の分子も発現している事がわかった。しかし、形態学的に正常な脊索は形成されない。また一方筋肉では、筋肉アクチンやミオシン重鎖などの発現は見られないことが判った。無尾種は尾のある種から進化して尾を無くしたと考えられているが、そのメカニズムは、脊索と筋肉の分化過程で異なるレベルの変化が起こっていると考えられることができる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

2002年末までに、C. エレガンスやヒトを初めとして7種の動物のゲノムが解読された。またこれらの動物を中心に発現

する遺伝子に対する発現配列タグ (EST) の情報なども多量に得られつつある。したがって、こうした広い意味でのゲノム情報をどのように利用してさまざまな生物現象の理解につなげていくかが今後の生物学の大きな研究課題の一つといえる。脊索動物のホヤの一種カタユレイボヤではそのゲノムが2002年末に解読され、また、ヒト、マウスについて大量の EST データが得られている。申請者はこれらの EST 情報をもとに、この動物においてどのような遺伝子がどのようなタイミングで発現しているのかを解析した。

まず第1部では、カタユレイボヤの受精卵、卵割期、尾芽胚期、遊泳幼生、幼若体の EST 情報を解析し、発生遺伝子の発現が全体的に、①発生段階が早いほど多様な遺伝子が発現する、②タンパク質合成関連遺伝子群の発現は発生が進むほど多くなる、③ECM 関連遺伝子の発現は遊泳幼生期で最大となる、④それぞれの発生のステージのそれぞれの器官は異なった遺伝子セットを使っている、などの特徴があることを示した。

第2部では、ハウスキーピング遺伝子に関する考察を行っている。組織特異的な遺伝子の解析が進む一方で非特異的に発現する遺伝子については不明なことが多く、それらに焦点をあてるべく解析を行った。その結果、発生の全てのステージで発現の認められる遺伝子は3.8%しかなく、しかも、代謝関連の遺伝子はその1割弱しかなかった。そこで、解糖系および TCA サイクルに関与する遺伝子の発現を調べたところ、全てのステージで発現している遺伝子は解糖系では約半分、TCA サイクルにいたっては1/5しかなかった。また同じくハウスキーピング遺伝子だと考えられるリボソーマルタンパク質でも同じような現象が観察された。このことは、今まで発生においてユビキタスと考えられてきたハウスキーピング遺伝子が発生学的に発現を調節されていることを示唆している。

最後の第3部では、無尾幼生を発生させるホヤの尾の形成されないメカニズムを探るべく、*Molgula tectiformis* の EST 解析を行った。これまでの研究でこのホヤでは *Brachyury* や *Tbx6* といった脊索又は筋肉分化制御因子の発現がみられることは判っていたが、今回の解析では、*Brachyury* に関してはその下流の遺伝子も発現している事がわかった。一方、筋肉アクチンやミオシン重鎖などの発現は見られないことが判り、脊索と筋肉の分化過程で異なるレベルの変化が起きていることを示した。

本論文の前半ではカタユレイボヤの EST 情報を、また後半では *Molgula* の EST 情報を利用した発生遺伝子の発現パターンの解析を展開している。特に第2部のハウスキーピング遺伝子が他の遺伝子と同様にその発現が発生学的に制御されていることを示した点は評価できる。

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た。なお、論文に報告されている研究業績を中心に関連分野に関する試問を行った結果、適切な解答が得られたので合格と認めた。