

# 論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 淳

生物の発生、形態形成において分泌性のシグナル分子が細胞の分化、増殖を制御している。なかでも Wingless (Wg)シグナルは進化上良く保存され、様々な局面において主要な働きをするシグナルの1つとして知られている。しかしながら、その受容体とそれに続くシグナル伝達の機構はいまだ未知の部分が多い。本論文はショウジョウバエを用いて Wg の新規受容体を同定し、その機能解析を通して Wg シグナルを解明したものである。

エンハンサートラップライン J29 はマーカー遺伝子 *lacZ* が *wg* と相同的に発現する系統であった。そこで P 因子挿入点近傍のゲノムを単離し、解析した結果、新規の Frizzled (Fz)ファミリーに属するタンパク質をコードする遺伝子 *Dfrizzled-3* (*Dfz3*)を同定した。*Dfz3* は、Fz ファミリーに特徴的なシステイン豊富領域(CRD)及び7回膜貫通領域、C末端のPDZ結合モチーフの全てを有していた。*wg* 変異体や異所発現系、Wgシグナル伝達経路の因子である Armadillo (Arm)の構成的活性型の異所発現系を用いて、*Dfz3* の発現の制御を解析したところ、*Dfz2* が Wg シグナルによって転写が抑制されるのに対し、*Dfz3* の転写は逆に活性化されていた。このことは、*Dfz3* が今まで存在しなかった Wg シグナルの強度を推測する良いマーカーであると同時に、*Dfz2* と *Dfz3* という同じファミリーに属するタンパク質が相補的に発現していることを示しており、大変興味深い。また、培養細胞 Schneider line 2 において、*Dfz2* もしくは *Dfz3* を発現させたところ、*Dfz2* と同様に *Dfz3* は Wg と直接結合できることが分かった。しかし、Wg シグナルの伝達能を Wg 依存的な Arm の安定化を指標にして測定した結果、*Dfz2* と比べ、*Dfz3* の Wg シグナル伝達能はかなり劣ると推測された。生体内においても、*Dfz3* の異所発現系を用いた解析で、翅原基において Wg シグナルにより活性化される *Distal-less* 遺伝子の発現がわずかながら誘導されていた。このことから、*Dfz3* が Wg シグナルをわずかながら活性化する機能を持っていることがわかった。

P 因子の再転移により、*Dfz3* の変異体を作製し、機能完全欠失変異体 *Dfz3<sup>G10</sup>* を単離した。*wg* 機能部分欠失変異体で見られる触角が欠失するという表現型が、*Dfz3* 変異体と *wg* 変異体との二重変異体では顕著に rescue していた。この二重変異体では、*wg* 変異体と比べ、*wg* の発現量は変化がまったく見られなかったにも関わらず、触角の形成にかかわる遺伝子である *dachshund* や *BarH1* 及び *BarH2* の発現は rescue していた。また、これらの触覚原基において、Wg シグナルにより抑制される *Dfz2* の発現に関しても rescue されたことから、*Dfz3* が Wg シグナルに対して抑制的に機能すると考えられた。さらに、*Dfz3* 変異体において、背中の中 Dorso-Central bristle (DC bristle) が増加するという表現型が得られ、異所発現系を用いた解析でも DC bristle が減少するという表現型が得られたことから、生体内の *Dfz3* は Wg シグナルに対し、抑制的に機能する受容体であると推測された。

さらに、*Dfz2* の変異体を単離することを目的とし、*Dfz2* と似た発現パターンを示す P0013 系統を単離した。P0013 系統の P 因子挿入点近傍のゲノム領域を解析した結果、P 因子が *Dfz2* の intron 内に挿入していることが分かり、機能完全欠失変異体 *Dfz2<sup>a28</sup>* を作製した。*Dfz2* 変異体の表現型は不妊であるという従来の報告と異なり、*Dfz2<sup>a28</sup>* 変異体はホモ接合体で妊性があり、顕著な形態的表現型は見られなかった。このことは、従来 *fz* と *Dfz2* が redundant に機能しているという考えを裏付けている。しかし、致死性はないが野生型の *fz* を持つ *wg* 機能部分欠失変異体と *Dfz2* 変異体との二重変異体が致死となったことから、*Fz* と *Dfz2* は完全に同等な機能を有しているのでは無いことが示された。また、*fz* もしくは *Dfz2* 変異体と *Dfz3* 変異体の二重変異体を作製した結果、*Dfz2* と *Dfz3* では表現型は見られず、*fz* と *Dfz3* では、*fz* の極性変異のみが観察され、*Dfz3* が補助的な機能しか有していないことが示された。以上の結果より、Wg シグナルにおいて、*Dfz2* が主要な受容体として、*Fz* は正のみの補助受容体として、*Dfz3* は正及び負の調節受容体として機能していると推測される。

以上のように、本研究では Wg シグナル伝達経路に関する重要な発見を述べており、評価できる成果である。なお、本論文は小嶋徹也、程久美子、宮田雄平、西郷薫の各氏との共同研究であるが、論文提出者が全ての研究過程において主体となって分析

及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が充分であると判断する。

したがって、博士(理学)を授与できると認める。