

論文審査の結果の要旨

氏名 松岡 朋子

本論文は3章からなり、第1章ではカイコ無翅突然変異体 *fl* の翅原基におけるエクダイソン応答性遺伝子の発現異常を明らかにし、第2章では *fl* 翅原基で異常発現する遺伝子を網羅的に解析している。さらに第3章では新規アネキシン遺伝子（アネキシンF）が *fl* の原因遺伝子であるという可能性を検証している。

完全変態昆虫においては、終齢幼虫期に体内のホルモン（エクダイソン）濃度の変化に伴って翅原基の形態が急激に変化する。*fl* の劣性ホモ個体は4齢幼虫時まではほぼ正常な形態の翅原基を持つが、5齢（終齢）で原基の分化が進行せず、蛹と成虫で無翅となる。また、他の組織に関しては野生型（WT）と形態的に大きな違いは見られない。論文提出者は、*fl* という変異体に変態時の翅特異的な遺伝子発現の解析に好適な材料であると考えた。

これまでの研究によって、*fl* 体液中のエクダイソン濃度は正常であり、翅原基のエクダイソン応答が異常なのではないかと示唆されていた。そこで、第1章ではエクダイソン応答性遺伝子群の発現量を定量的 RT-PCR によって WT と *fl* で比較した。その結果、エクダイソン受容体を構成する EcR や USP など、転写活性化経路の上流の転写因子が *fl* 翅原基においてほぼ正常に発現していることが確認された。これに対して、昆虫ではエクダイソンによる転写誘導の要として知られる核内受容体・BHR3 や、翅の表皮部分の形成に関わる Urbain は、*fl* では有意に発現量が低下していることが示された。また、*fl* における BHR3 の発現抑制は翅原基だけで見られる現象であることが示された。従って、*fl* の翅原基では、エクダイソンによる情報伝達系の上流ではなく比較的下流の遺伝子発現に異常があり、しかもそれが翅原基特異的であるため、翅の欠損という表現形に結びついたと結論づけられた。

第2章では、*fl* 翅原基で発現に異常を来している遺伝子を解析することによって、*fl* 翅原基における異常の分子レベルの解析と、*fl* 原因遺伝子の機能を推測を試みている。ディファレンシャル・ディスプレイ法を用いて WT と *fl* の翅原基の mRNA を比較した結果、*fl* の翅原基では、成虫原基の発達に関わる ribosome-associated

protein P40 や、いくつかの細胞外マトリクス成分が過剰発現していることが明らかになった。特に P40 については、*fl* 翅原基では前蛹期に WT の 10 倍以上の過剰発現が検出されている。P40 は翅原基の増殖を抑制すると考えられているので、このことが *fl* の翅原基の細胞増殖低下の原因ではないかと想定される。また、細胞外マトリクスの過剰発現は *fl* の翅の形態異常を引き起こすと考えられる。一方、Ca²⁺/リン脂質結合タンパク質、アネキシンの一種と考えられる遺伝子は *fl* の翅原基で全く発現していないことが示された。このアネキシン（アネキシンF）は翅で他の組織よりも強く発現しており、翅の形成に重要な働きを持つことが推測された。

第3章ではアネキシンFに注目し、*fl* の原因遺伝子である可能性について解析を行っている。まずアネキシンF遺伝子をプローブとしてサザンハイブリダイゼーションを行い、*fl* のゲノム上ではこの遺伝子の全領域が欠失していることを確認した。また、*fl* 遺伝子がマップされている第10連関群上の DNA マーカーとアネキシンFについて連鎖解析を行い、これらがすべて連鎖する、すなわち、アネキシンFは *fl* 遺伝子と同じ染色体にあることを示した。さらに、ここまで用いていた *fl* ではなく、他の allele (*fl*, *fl*^m) についてアネキシンF遺伝子を調べ、N末端領域にアミノ酸置換を発見した。これらの結果はアネキシンFが *fl* 遺伝子そのものである可能性を強く示唆する。アネキシンファミリーは植物から哺乳類に至るまで広く存在しているが、生体内における正確な役割についてはほとんど知られていない。論文提出者はアネキシンFのN末端に見られる特徴的なリピート構造や系統解析の結果からこれまでに見つかっていない新規のアネキシンであると考え、アネキシンFがCa²⁺による情報伝達経路とエクダイソン応答カスケードとの接点になる可能性について考察している。

以上の結果から、*fl* ではアネキシンFの機能欠損が翅原基におけるエクダイソン応答性遺伝子や細胞外マトリクスの発現異常を引き起こし、変態期の翅形成を阻害したことが示唆された。

なお、本論文はすべて藤原晴彦との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行っており、その寄与が十分であると判断する。

従って、博士（理学）の学位を授与できると認める。