

# 論文審査の結果の要旨

氏名 児玉 有希

学位申請者児玉有希は、線虫 *C. elegans* の *cdl-1* (cell death lethal)変異体について解析をおこない、本研究においてその原因遺伝子を突き止めた。*cdl-1* 変異体は胚性致死で、その最終表現型において特徴的な形態異常と過剰に蓄積した死細胞が観察されるものである。

*cdl-1* 変異体の胚発生につき、詳しい経時的な観察を行った結果、野生型に比べ、プログラム細胞死による死細胞が胚発生初期には少なく、胚発生後期には過剰に観察されることが分かった。胚発生中のそれぞれの死細胞の挙動を追ったところ、*cdl-1* 変異体では全体的に死細胞の出現が遅れ、さらに死細胞が長時間にわたって分解されず残存するという表現型が観察された。また、咽頭原基の開口部への移動不全、胚発生時の前後軸方向への伸長不全等の特徴的な形態形成不全が観察された。このように死細胞の出現と除去の双方に異常を示し、さらに組織特異的な形態形成不全の表現型を示すようなプログラム細胞死関連変異体はこれまで報告されておらず、*cdl-1* 変異体の解析によりプログラム細胞死の遺伝学的経路に新たな知見を与えることが期待された。

突然変異の遺伝学的マッピングと、ゲノムプロジェクトから推定されたその領域の遺伝子を RNA 干渉法で機能破壊することを組み合わせて、学位申請者は *cdl-1* 変異体の原因遺伝子の同定に成功した。その結果、*cdl-1* 遺伝子は、ヒストン mRNA の 3'-UTR に存在する stem-loop 構造に結合する SLBP (stem-loop binding protein)とよばれるタンパク質のホモログをコードすることが分かった。

ヒストンの生合成は、細胞周期にしたがって転写および転写後の 2 つのレベルで厳密に制御されている。転写後レベルでの発現制御に重要な役割を担っているのがヒストン mRNA の 3' UTR に保存されている stem-loop 構造である。*C. elegans* の大部分のコアヒストン遺伝子の 3' UTR 領域には 34bp の stem-loop 構造を形成する保存された領域が存在する。検討したところ、CDL-1 タンパク質とコアヒストン mRNA の 3' UTR に存在する stem-loop 構造が相互作用することが確認された。そこで、コアヒストン遺伝子の発現を RNA 干渉法(RNAi)を用いて減少させたところ、*cdl-1* 変異体によく似た表現型が再現された。以上の結果より、CDL-1 はコアヒストン mRNA に直接結合する

ことでコアヒストンタンパク質の発現制御に寄与していると考えられた。

*cdl-1* 遺伝子あるいはコアヒストン遺伝子の機能を RNAi 法を用いて破壊した場合、変異体で観察された表現型に加え、初期胚で発生を停止する表現型を示す個体を得られた。これらの初期胚発生停止個体における初期卵割を観察したところ、核分裂時のクロマチン凝縮および分離に異常が確認された。それらでは核分裂の際にクロマチンが十分凝縮せず、分裂した核の間に DNA が橋状に存在していた。*cdl-1* の機能破壊によりコアヒストンの発現量が減少し、ヌクレオソーム構造が正常に形成されないために、核分裂時のクロマチン構造の制御に異常が生じたものと考えられる。

これらの結果から、*cdl-1* 変異体ではコアヒストンの発現が不十分であるためにクロマチン構造が異常となっていると考えられた。染色体のクロマチン構造は細胞周期やアポトーシスの進行、あるいは細胞の分化等に応じて大きく変化する。細胞分裂時にはクロマチンの十分な凝縮が必須である。アポトーシス細胞においてはクロマチン凝縮とヌクレオソームレベルへの DNA 断片化が起こる。さらにクロマチン構造は遺伝子の発現制御にも重要な役割を果たしている。*cdl-1* 変異体ではクロマチン構造が異常なためにその構造変換の制御が正常におこなわれず、ゆえにプログラム細胞死や形態形成に異常が観察されたものと考えられた。

以上、児玉有希は細胞死に異常をきたした線虫変異体の解析から SLBP の遺伝子を同定し、変異体の示す多様な表現型が機能的コアヒストンの減少に起因することを明白に示した。この成果は、細胞死の機構という観点ならびに染色体構造と細胞機能との相関という観点から大事な知見を与えており、学位申請者の業績は博士（理学）の称号を受けるにふさわしいと審査員全員が判定した。なお本論文は Joel H. Rothman、杉本亜砂子、山本正幸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たもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、児玉有希に博士（理学）の学位を授与できると認める。