

## 論文審査の結果の要旨

氏名 梶田 恵 理

本論文は3章からなり、第1章はツメガエルのアルドラーゼBの遺伝子のクローニングとその発現パターンと、アルドラーゼA, B, Cの3つの遺伝子の生体組織や卵・胚発生での発現の比較検討を行っている。第2章ではアルドラーゼA, B, Cの3つの遺伝子の胚発生と生体組織での定量的な発現に関する研究を行っている。第3章ではアニマルキャップにアクチビンとレチノイン酸で処理することによって、アルドラーゼの遺伝子発現について述べられている。

アルドラーゼは解糖系の鍵となる酵素で、高等動物ではA(筋型)、B(肝型)、C(脳型)の3種の遺伝子が存在する。このアルドラーゼA, B, Cという同様の機能を持つ3つの遺伝子を材料にし、この3者が各々どのような調節を受けて、組織及び発生時期に特異的な発現をしているかを調べることは遺伝子発現調節のユニークなモデル系となると考え、この研究が行われている。

アフリカツメガエルのアルドラーゼcDNAはA, C型が既にクローニングされ発現研究の報告がなされていたが、B型についてはまだ報告がなかった。梶田氏はまず2種類の肝臓cDNAライブラリーから2つのB型cDNA(XALDB1; 2447 bp 及び ALDB2; 1490 bp)をクローニングし、その構造を明らかにした。XALDB1 及び XALDB2 は ORF 内にアミノ酸配列に影響を及ぼさない塩基置換が2ヶ所、conservative なアミノ酸置換を引き起こす塩基置換が1ヶ所あるのみで、UTR 部分においても非常に良く似ていることが明らかになった。ここで得られたcDNAをプローブとし、ツメガエル成体組織・卵細胞・初期胚のmRNAでノザンプロット解析を行った。成体組織では、アルドラーゼB型mRNAは腎臓、肝臓、胃、腸において非常に強い発現、皮膚でも比較的強い発現が見られ、筋肉や脳(A・C型の主要な発現部位)を含む他の臓器ではあまり発現が見られなかった。

更に、Whole mount *in situ* hybridizationにより初期胚におけるmRNAの空間的発現をA, B, C間で比較した。XALDBのmRNAは後期神経胚から発現しはじめる。その発現領域は肝臓原基、前腎、後腸領域、及び表皮であり、成体組織における発現と一致していた。C型におけるWhole mount解析はこれまで報告がなされていなかったが、神経胚後期より神経組織、心臓原基で強い発現が見られた他、前腎でわずかな発現が見られた。A型もまた前腎で発現することが既に報告されているから、前腎はA, B, Cの3種が全て発現する臓器であることが明らかにされた点は器官形成の上からも面白いといえる。

梶田氏は、ツメガエル卵は卵割期までは卵黄に依存して発生するため、A 及び C アルドラーゼのみによって代謝をまかなうが、摂餌が始まるまでの間に B が発現しはじめ、果糖の摂取に備えるのではないかという結論に達した。このことはアルドラーゼというアイソザイムが発生過程の中で大きな役割をお互いに分担していることを示しており、その成果の意義は大きいといえる。また、発生過程での腎形成の時の3種のアルドラーゼのA, B, Cの発現の変化を調べアルドラーゼAとCはアクチビンとレチノイン酸処理による腎形成に深く関与しているが、アルドラーゼBは腎形成の関与とあまり高くないことを明らかにした。

このように梶田氏はツメガエルで初めてアルドラーゼBの遺伝子をクローニングし、解析したのみならず発生過程や成体の各臓器でのアルドラーゼA, B, Cの3種を定量的に比較することを行って、アルドラーゼ相互間の役割についても新しい知見をもたらした。

尚、本論文の第1章は脇山ら9名との共同研究であるが、論文提出者が主体となって遺伝子をクローニングし解析を行っており、第2章については森脇ら6名と共同研究を行っているが論文提出者が主体となって3種のアルドラーゼの定量を行っている。また3章についてはすべて論文提出者が行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。