

論文審査の結果の要旨

氏名 前田 郁麻

線虫 *C. elegans* ではゲノムプロジェクトにより約 19,000 の遺伝子が予測されているが、大多数の予測遺伝子は依然として機能不明であり、ゲノム情報を利用した体系的な遺伝子機能解析が必要とされている。そこで学位申請者前田郁麻は、近年急速に普及した RNAi 法を用いて、*C. elegans* で体系的に遺伝子機能破壊を行う系を構築した。通常 *C. elegans* で RNAi を行うときは RNA を個体に導入する手段として微量注入を用いるが、網羅的に RNAi を行うには負担が大きい。そこで学位申請者は簡便な RNA 導入法として、RNA 溶液に *C. elegans* を浸けておくだけの RNAi-by-soaking 法の確立を目指した。*C. elegans* では EST プロジェクトにより予測遺伝子の過半数について cDNA が同定されている。これに基づく非重複 cDNA セットを鋳型として二本鎖 RNA を合成し、RNAi-by-soaking 法によって各遺伝子の RNAi を行った。本研究では全遺伝子の 13% に当たる約 2,500 遺伝子の解析を行い、それらのうち 27% で何らかの表現型を認めた。さらにそれらの中から生殖細胞特異的に機能している遺伝子を同定することを目的として、F1 世代に不稔性をもたらした遺伝子の詳しい解析を行い、生殖細胞の増殖・卵形成・卵成熟・生殖腺形成などに関与する遺伝子を同定した。

学位申請者は同定できた遺伝子のうち、HMG box ファミリーに属するヒト SSRP1 (Structure-Specific Recognition Protein 1) の相同遺伝子、*hmg-3* の解析をさらに進めた。*hmg-3* の RNAi では、生殖細胞の増殖が少なく不稔であったが、体細胞には影響が見られなかった。さらに染色体上の *hmg-3* 遺伝子を欠いた欠失変異体を取得したところ、その表現型は RNAi の場合とほぼ同一であった。したがって、*hmg-3* の機能は生殖細胞特異的であると予想された。一方、*hmg-3* には *hmg-4* という paralog が存在するが、*hmg-4* に対する RNAi は幼生致死であり、ほとんど全ての F1 個体と同じステージで成長停止したのち動きが鈍くなり、やがて死に至った。幼生致死となった個体は形態的にはほぼ正常であった。*hmg-3* と *hmg-4* の機能を同時に破壊すると胚性致死となり、成長停止した胚は、細胞増殖はかなり起きているものの、形態形成を開始せずに細胞塊となったままであった。ただし、腸や筋肉などの組織への分化はある程度見られた。以上の結果から、*hmg-3* と *hmg-4* は胚発生時には redundant

に働き、胚発生以降は生殖系列と体細胞系列で独立に働いていることが示唆された。

C. elegans の生殖細胞増殖は、ショウジョウバエの Notch 経路と相同な *glp-1* 経路によって制御されている。*glp-1* は生殖腺ディスタル側において、*gld-1* と *gld-2* という減数分裂開始に redundant に働く二つの遺伝子を負に制御することにより、体細胞分裂の進行および生殖細胞の増殖を実現している。*hmg-3* が *glp-1* と同じように *gld-1* と *gld-2* の上流で働いている可能性を調べるため、生殖細胞が体細胞分裂ばかりを起こして腫瘍が生じる *gld-1gld-2* 二重変異体に対して RNAi を行った。その結果、*hmg-3* は *gld-1gld-2* による生殖細胞の腫瘍を部分的にしか抑圧できないことが分かった。したがって、*hmg-3* はおそらく *glp-1* 経路を介して *gld-1gld-2* の上流で働くと考えられたが、全く抑圧能を持たない *glp-1* とは表現型が異なるので、体細胞分裂の進行過程などの他のプロセスにも何らかの役割を持つと考えられる。

学位申請者は *C. elegans* の近縁の線虫である *C. briggsae* に SSRP1 の相同遺伝子が 2 つ存在することを認め、それぞれ *Cb-hmg-3*, *Cb-hmg-4* と名付けて機能解析を行った。*Cb-hmg-3* に対して RNAi を行ったところ、F1 個体は不稔となったが、*C. elegans* の場合とは逆に、体細胞分裂が起き続けてしまうという腫瘍的な表現型を示した。一方、*Cb-hmg-4* の機能はあまり重要ではないと思われ、RNAi では F1 個体が野生型に比べてやや体が小さいという傾向が見られたが、稔性や生存には影響がなかった。さらに、*Cb-hmg-3* と *Cb-hmg-4* の機能を同時に欠損すると胚性致死の表現型が見られた。このことから、表現型の細部で違いが見られるものの、*C. briggsae* でも、*C. elegans* で見られたような体細胞と生殖細胞における SSRP1 の使い分けという機構は保存されていることが分かった。

以上、前田郁麻は線虫 *C. elegans* で体系的に遺伝子機能破壊を行って、数多くの遺伝子についてその働きの推測を可能にした。さらに線虫の体細胞と生殖細胞における SSRP1 の使い分けという興味深い機構の存在を明らかにした。本研究の成果は線虫の分子生物学、特に生殖細胞の形成機構の解明に大きく寄与するものであり、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。なお本論文は杉本亜砂子、小原雄治、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、前田郁麻に博士（理学）の学位を授与できると認める。