

論文審査の結果の要旨

氏名 西田歩

本論文では、シヨウジョウバエのセグメントポラリティ遺伝子として知られる *armadillo* の新規機能についての分子生物学的な研究の結果、*Armadillo* 蛋白質と結合する新規の蛋白質 *Sunspot* を見だし、*Sunspot* 蛋白質の生体内における機能について述べられている。

armadillo はヒトの癌遺伝子である β -catenin のシヨウジョウバエホモログであり、現在まで幾つかの機能が知られている。 β -catenin は E-cadherin の裏打ち蛋白質として細胞接着に寄与するほかに、Wnt シグナル伝達系の情報伝達にも関与して Wnt シグナル伝達経路の標的遺伝子の転写活性化に関わっており、現在までのところ、*Armadillo* もこれら複数の機能を持つことが知られている。*Armadillo* が複数の機能を持つ原因は、*Armadillo* が複数の分子と相互作用するためであると考えられる。本論文では *Armadillo* に結合する新規の蛋白質の存在を想定し、*Armadillo* のアルマジロリピートを bait として、シヨウジョウバエ embryo cDNA ライブラリーより Yeast two-hybrid 法を用いて検索を行った結果、新規 *Armadillo* 結合蛋白質 *Sunspot* を見出した。*Armadillo* 結合蛋白質は複数知られているが、本研究で見出された *Sunspot* は現在のところ他に報告されていない全く新規の蛋白質である。*Sunspot* 蛋白質は 368 アミノ酸をコードしており、*Sunspot* のアミノ酸配列のドメイン検索より、N 末端側には BED finger モチーフの存在が示唆された。次に *Sunspot* 蛋白質と *Arm* の結合に重要な領域を検討するために、様々な断片の *Sunspot* 蛋白質と *Armadillo* 蛋白質とで *in vitro* での結合を検討した結果、*Sunspot* の 235 アミノ酸から 307 アミノ酸を含む領域が *Armadillo* 蛋白質との結合に重要であることが示された。

また、*sunspot* 完全機能欠失変異体を作成し、その表現型を観察した結果、*sunspot* 変異体は 3 令幼虫から蛹に変態できず、成虫原基が正常アリの成虫原基と比較して著しく小型であった。

Armadillo 蛋白質のアルマジロリピートに結合する蛋白質の多くは *Wg* シグナル伝達経路を制御することが知られており、*Sunspot* 蛋白質も *Wg* シグナル伝達経路を制御する可能性が考えられる。この可能性を検討するために、成虫原基上に *sunspot* 変異細胞を誘導し、その細胞において *Wg* 標的遺伝子の発現が変化するかどうかを観察したが、発現の変化は観察されず、*sunspot* 遺伝子は *Wg* シグナル伝達経路に必須な遺伝子でないことが示された。

Sunspot 蛋白質の N 末端側には BED finger モチーフが存在し、他に BED finger モチー

フをもつと知られている遺伝子 DREF は E2F-1 や PCNA などの細胞周期制御遺伝子の転写を制御している。そこで、Sunspot が細胞周期制御遺伝子の転写を制御する可能性について検討したところ、sunspot 変異細胞において E2F-1 や PCNA の発現が低下することが明らかになった。また、sunspot の強制発現によって E2F-1 や PCNA の発現が変化するか検討したところ、異所的な E2F-1 や PCNA の発現が観察された。以上の結果より、sunspot は成虫原基上において E2F-1 や PCNA などの細胞周期制御遺伝子の転写を正に制御する機能をもつことが示された。

以上のように、本研究は Armadillo 蛋白質と結合する新規蛋白質 Sunspot を見出し、Sunspot はショウジョウバエの成虫原基の発達に必須の遺伝子であり E2F-1 や PCNA などの細胞周期制御遺伝子の転写を正に制御する機能を持つことを明らかにした。すなわち、Armadillo 蛋白質が Wingless シグナル伝達経路以外にも Sunspot を介した細胞周期制御遺伝子の転写調節に関与することを示しており、極めて重要な研究である。なお、本論文は濱田文彦、秋山徹との共同研究であるが、いずれも論文提出者が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。