

論文審査の結果の要旨

氏名 深町 昌司

本論文は3部からなり、第1部はメダカ *b* 遺伝子座、第2部では *color interfere (ci)* 遺伝子座、及び第3部では *i-3* 遺伝子座の各突然変異体原因遺伝子の同定について述べられている。同定の方法は、各遺伝子の染色体上の位置情報のみに基づく純粋なポジショナルクローニングであり、メダカにおける順遺伝学的アプローチの有効性を強く示す論文である。

第1部-*b* 変異体は、黒色素胞内のメラニンを特異的に欠損する。申請者はDNAマーカーを用いて *b* 遺伝子座周辺の高解像度の組み換え地図を作製した。*b* 変異候補領域を完全に含むコスミドのインサート配列から *AIM1* を得た。メダカ *AIM-1* は576アミノ酸からなり、12の膜貫通領域を有する輸送タンパク質と予測された。*b* 遺伝子座自然/誘発突然変異体8系統のうち、7系統から翻訳領域に変異を同定し、残る1系統は転写異常であり、プロモーター領域に逆位を検出した。更に、全 *AIM1* を含むゲノム断片の *b* 変異体胚へ導入し、メラニン合成能を回復した。一方、マウス *AIM1* 相同遺伝子を単離し、白人特異的な多型を検出した。これらの結果から、1) メダカ *b* 遺伝子は新規輸送タンパク質 *AIM-1* をコードし、2) *AIM-1* は脊椎動物で共通してメラニン合成に関わるとした。

第2部-*ci* 変異体の白色素胞は成長に伴って著しく拡大・増殖し、逆に黄色素胞は減少する。*ci* の白色素胞の色素顆粒は、神経伝達物質やホルモン等の外部刺激に対して正常に拡散/凝集するが、背地の色に応じて細胞数・サイズが変化しなかった。*ci* 変異候補領域を含むBACクローンのインサート配列から、成長ホルモン・プロラクチンのファミリーに属するソマトラクチンを得た。メダカソマトラクチンは230アミノ酸で構成され、その発現は脳で最も強く検出された。また、転写量は白色背地

で大きく抑制された。ci 変異体のソマトラクチン遺伝子は翻訳領域に 11 塩基の欠失を持つため C 末端側の 91 アミノ酸を欠いている。加えて、脳での転写がほとんど検出されなかった。これらにより、1) ci はソマトラクチンをほぼ完全に欠損した変異体であり、2) ソマトラクチンは白色素胞の分化・増殖に対し抑制的（黄色素胞に対しては促進的）に働き、3) その発現の抑制が白色背地における体色の明化を引き起こすと結論した。他の魚類でこれまで主張されていた機能と必ずしも一致しない原因は、系統樹解析によりこれまでに単離されたソマトラクチンが相同遺伝子ではない可能性と、ソマトラクチンが種ごとに機能を変化させている可能性があるとした。

第 3 部-*i-3* 遺伝子座突然変異体は全身のメラニンを欠損し、ヒト・マウスの白子症（OCA）と類似する表現型を有する。シンテニー解析によりメダカ *i-3* 遺伝子座周辺領域はヒト 19p13 に該当するが、この領域にはヒト OCA1~4 型の原因遺伝子は存在しなかった。*i-3* 変異候補領域をカバーする BAC クローンのインサート配列には *P* を含む 6 個の遺伝子が存在し、1 つを除き全てヒト 15q11 の遺伝子と相同であった。この結果から、ヒト-メダカ間のシンテニーは 200kb 程度であれば強く保存されているが、約 1Mb 歩行した先では必ずしも保存されていないとした。メダカ *P* は 842 アミノ酸からなる膜タンパクをコードする。ヒト・マウスの *P* は 12 の膜貫通領域を有する機能未知の輸送タンパク質と考えられてきたが、申請者が行った解析ではヒト・マウス・メダカとも 11~14 と予測され、明らかな高次構造は予測できないとした。発現は眼球で強く検出されたが、メラニンを産成しない卵巣及び受精卵では *P* のスプライシングバリエントを検出した。*i-3* 変異体の *P* は翻訳領域における 4 塩基の欠失により C 末端側の 393 アミノ酸を欠いていた。以上の結果より、申請者は 1) *i-3* 突然変異体の原因遺伝子は *P* であり、2) メダカはほ乳類には検出されない *P* のスプライシングバリエントを卵巣・受精直後の胚に持ち、3) *P* は脊椎動物で共通してメラニン合成に関わると結論した。

なお、本論文第1部は、A. Shimada、A. Shima との共同研究で Nature Genetics 誌に公表済みである。本論文第2部は、M. Sugimoto、H. Mitani、A. Shima との共同研究で PNAS 誌にほぼ掲載決定の状態であり、第3部は、S. Asakawa、Y. Wakamatsu、N. Shimizu、H. Mitani、A. Shima との共同研究で、Genetics 誌で査読中である。いずれも論文提出者が筆頭著者として主体となって解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、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。