

論文審査結果の要旨

氏名 徳廣（澤田）美由紀

セイヨウミツバチ (*Apis mellifera* L.) は社会性昆虫であり、雌が女王蜂と働き蜂にカースト分化する他、働き蜂は羽化後の加齢にともなって育児から門番、採餌へと分業する。さらに、その働き蜂はダンス言語により、仲間の働き蜂に見つけた花の位置を伝達する。しかしながら、こうしたミツバチの社会性の分子的基盤は明らかではない。徳廣氏は平成 8 年、本学大学院薬学系研究科修士課程在籍時に、ミツバチの行動を規定する遺伝子の候補として、脳で発現する遺伝子を differential display 法を用いて検索する過程で、高次中枢（キノコ体）選択的に発現する遺伝子、*Ks-1* を同定した。徳廣氏はその後、製薬会社に就職したが、平成 12 年に本学大学院薬学系研究科、平成 13 年からは同理学系研究科で教務補佐員として採用され、上記の研究を継続、発展させる研究に従事した。本研究の第一章では、*Ks-1* 遺伝子産物が、神経選択的な非翻訳性核 RNA であることを報告している。さらに第二章では、ミツバチの脳で発現する遺伝子のデータベースから、新たな非翻訳性核 RNA の遺伝子として、*AncR-1* を同定した。これらは、組織／器官選択的に発現する新しいタイプの非翻訳性核 RNA であり、RNA の新たな分子機能を提唱するものである。

第一章では先ず、*Ks-1* の詳細な発現解析を行っている。その結果 *Ks-1* は、性やカーストに依らず、脳などの神経組織に選択的に発現することを見出した。次いで、cDNA の単離と細胞内局在の解析を行い、(1) 5'末端を含む 17.5kbp の cDNA に長い ORF が含まれない、(2) 短い ORF についても、別種のミツバチ（ニホンミツバチ）の *Ks-1* ホモログの間で構造が保存されていない、(3) *Ks-1* 転写産物は核内に点状に局在する、(4) *Ks-1* 転写産物は核内で、遺伝子座とは異なる部位に局在する、ことを見出した。これらの結果は、*Ks-1* 転写産物が神経特異的な新規な非翻訳性核 RNA として機能することを示唆している。

第二章では、ミツバチ脳で働く新規な非翻訳性核 RNA 遺伝子を同定する目的で、ミツバチ脳の cDNA データベースから、*in situ* ハイブリダイゼーション法により、シグナルが働き蜂脳の細胞核に局在して検出される遺伝子を検索し、新たに *AncR-1* を得た。cDNA クローニングの結果、*AncR-1* 転写産物はサイズが約 7kbp で、スプライシングと poly(A)付加を受けるという、mRNA 様構造をもつことが明らかになった。*AncR-1* についても、(1) 転写開始部位上流-30bp の TATA ボックスがプロモーター活性をもつ、(2) 完全長の cDNA に長い ORF が含まれない、(3) 短い ORF についても、ニホンミツバチの *AncR-1* ホモログの間で保存されていない、(4) *AncR-1* 転写産物は

核内で点状に局在する、(4) 核分画から同定した *AncR-1* 転写産物も poly(A)付加されている、ことを明らかにした。これらの知見は、*AncR-1* 転写産物が mRNA 様構造をもつ新規な核内非翻訳性 RNA であることを示している。しかしながら *AncR-1* は、*Ks-1* とは異なり、神経組織以外でも発現しており、雄蜂腹部では精巣、働き蜂頭部では下咽頭腺、腹部では脂肪体、女王蜂腹部では卵巣と、各々の個体で選択的に発達する組織／器官で発現していた。

これまでに報告のある、サイズの大きい（数 kbp 以上）非翻訳性核 RNA としては、哺乳類の *Xist* とショウジョウバエの *roX* 以外には、ほとんど解析が進んでいない。*Xist* や *roX* は性特異的にほぼ全身で発現し、性染色体に局在して、遺伝子量補正に関与するのに対し、*Ks-1* や *AncR-1* の発現は性に依らず、それぞれ神経組織や組織／器官選択的に発現する点で、新しいカテゴリーに属する RNA であると思われる。また、その発現様式から、遺伝子発現調節に関わる可能性がある。さらに両者のホモログが他動物種からは見出されないことから、社会性などミツバチ固有の生物学的特性に関わる可能性も指摘できる。以上本研究では、ミツバチから 2 種類の組織／器官特異的に発現する非翻訳性核 RNA を世界で初めて同定した点で、分子生物学や動物科学の発展に寄与する点がある。なお本論文は、第一章、第二章とも複数の研究者との共同研究として行われているが、全編に渡り、論文提出者が主体となって実験計画の立案、実験の遂行、論文作成を行っており、論文提出者の寄与は充分である。従って、博士（理学）の学位を授与できるものと認める。