

論文内容の要旨

論文題目 線虫の様々な器官形成に関わる eyes absent family 遺伝子 *eya-1* の解析
The developmental role of the *eyes absent* homolog, *eya-1*, in *C. elegans*.

氏名 古屋 美和

eyes absent / Eyaファミリー遺伝子は、脊椎動物や節足動物の様々な器官形成に必須な転写制御因子である。シヨウジヨウバ工の複眼形成過程において、*eyes absent* は転写因子 *eyeless/Pax6* の下流で発現誘導され、複数の転写因子と物理的に相互作用することが示されている。*eyes absent* の関わる分子経路は、シヨウジヨウバ工の他の器官形成過程においても、また哺乳類の Eyaファミリー遺伝子の関わる器官形成過程でも一部類似していることが明らかになっている。しかし一方で、Eyaファミリー遺伝子がどのような分子機構により複数の器官形成に関与するか、その機能の器官特異性には依然不明な点が多い。

そこで本研究では、これまで機能未知であった線虫の Eyaファミリー相同遺伝子である *eya-1* の役割を明らかにし、さらに線虫をモデル系に *eya-1* の関わる分子経路を明らかにすることを目的に以下の実験を行った。まず遺伝子欠損変異および RNAi による *eya-1* の機能破壊表現型を解析した結果、①胚発生後期における頭部と咽頭の形態異常、および高温条件下での過剰な細胞死、②幼虫期初期における高い浸透度での発生停止、③孵化後発生過程における体の形態や複数の器官形成異常、が見出された。*eya-1* 変異体の胚発生過程を詳しく解析するため、体壁筋細胞および咽頭筋細胞を標識して観察したところ、体壁筋細胞の移動が正常でないこと、また咽頭筋細胞の形態が野生型と

異なることが示唆された。*eya-1* 変異体とプログラム細胞死の変異体の二重変異体を作成したところ、細胞死が抑制されたことから、過剰な細胞死はプログラム細胞死の遺伝学的経路に依存していることがわかった。しかし、細胞死を抑制しても胚発生の形態異常は抑制されないことから、細胞死は形態異常の直接の原因ではないといえる。機能型の *eya-1::gfp* レポーターを用いて発現解析をした結果、器官分化が起きる胚発生後期に、体壁筋細胞および咽頭細胞の一部を含む、頭側の複数の細胞核に局在がみとめられた。したがって、*eya-1* 変異体の異常の見られる時期、および *eya-1::gfp* レポーターの発現が見られる時期を考え合わせると、*eya-1* は頭部の器官や組織において細胞が分化する過程に機能すると考えられた。*eya-1* 変異体における孵化後発生過程における異常は、*eya-1* 遺伝子の胚発生の機能が失われたことによる二次的な影響であるか調べるため、RNAi によって孵化後に *eya-1* の機能を阻害したところ、孵化後発生過程における異常の一部は見られた。したがって、*eya-1* は少なくとも胚発生期と孵化後の発生過程のそれぞれに機能が必要である。次に、*eya-1* と線虫の *eyeless/Pax6* の相同遺伝子である *pax-6* の遺伝学的関係を調べた。*pax-6* は、遺伝子欠損変異によって *eya-1* とは異なる頭部形態異常を示すが、*pax-6* の完全機能欠損変異体において、*eya-1* 遺伝子の機能を RNAi によって低下させたところ、胚発生期の頭部形態異常と孵化後の致死性が顕著に強まることがわかった。したがって、シヨウジョウバエの複眼形成において *eyes absent* の発現が *eyeless* に依存する関係とは異なり、線虫の *eya-1* と *pax-6* は胚の頭部形態形成過程および孵化後の発生過程において各々独立した機能と、部分的に重複した機能とを持つことが示唆された。

本研究の結果、線虫の Eya ファミリー相同遺伝子である *eya-1* は複数の器官や組織の分化に必要であること、また一部の組織では *pax-6* と協調的に機能することが明らかになった。線虫のタンパク間相互作用を網羅的に解析した“interactome”解析によると、線虫の EYA-1 と PAX-6 に結合するタンパク質はたいへん多く、また 16 もの共通の結合タンパク質が見出された。EYA-1 と PAX-6 の重複した機能は、共通の結合タンパク質に働きかけることによる可能性があり、またそれ以外のタンパク質に働きかけることで、EYA-1 または PAX-6 は独立の機能を果たす可能性がある。今後は、このような分子間相互作用が実際に線虫の発生過程で用いられているか、遺伝学的に確かめることで、*eya-1* の器官ごとの機能の違いを理解することにつながると思われる。