

論文審査の結果の要旨

氏名 高橋 麻裕子

本申請者の高橋麻裕子は、Src 遺伝子の癌化や発生分化における役割に注目し、ショウジョウバエの発生過程における Src 遺伝子の機能解析を行った。学位論文では、「序」、「材料と方法」、「結果」、「考察」、「結論」に分けて、得られた成果とその意義が述べられている。

Src は、最初に発見された癌遺伝子であるが、哺乳類においては、類似した機能を持つホモログが多数程度存在するため、loss-of-function に基づいた、機能解析が著しく遅れていた。一方、ショウジョウバエには Src ホモログは 2 種類 (Src64, Src42A) しか存在しておらず、Src の機能解析が可能であると期待された。

申請者は、ショウジョウバエの 2 つの Src のうち、共同研究者が以前に発見した Src42A を中心に、発現、機能および関連分子・遺伝子カスケードの解明を目指して以下の実験を行った。まず、Src42A の抗体を作り、E-cadherin に対する抗体との二重染色により、Src42A タンパク質の細胞内局在を調べた。その結果、Src42A タンパク質は、主として細胞の 2 カ所に局在していることがわかった。第一は、E-cadherin あるいは細胞間接着部位近傍、第二は細胞と細胞間基質との接着部位。Src42A のタンパク質非産生変異株を作出したところ、Src64 とは異なり、単独でも致死でかつ胚期背部閉鎖において明確な異常が見いだされた。このことは、左右の細胞が、アクチン骨格の形態をコントロールしながら正しい相手を探るプロセスに、Src42A が、関わっていることを示している。Src64 と Src42A の二重変異株を作ってみたところ、germband retraction, 中枢神経形成、トラキア形成等様々な著しい表現型変異がみられることが分かった。このことは、Src64 と Src42A の冗長的な機能は、様々な発生分化の文脈で必須であるが、一方の欠損だけでは、著しい形態異常は生じないことを示している。Src の役割をより明確にするために、Src42A のドミナントネガティブ型を複眼で発現させ、生じたラフ眼を増強する変異体を探索した。その結果、E-cadherin をコードする shotgun 遺伝子が、Src 変異のエンハンサーであることが分かった。E-cadherin は、細胞間の接着のための細胞外での直接的な相互作用だけでなく、細胞質内では、・・・カテニン (Armadi llo) と結合する。・・・カテニンは・・・カ

テニンと結合し、さらに・ カテニンは F-アクチンと結合するので、結果として E-cadherin は、細胞骨格と連結している。申請者は、胚期背部閉鎖、複眼等の遺伝学的な研究から、Src42A は、E-cadherin だけでなく、Armadillo とも相互作用することを示した。さらに、胚期背部閉鎖への、Src の効果を、Src42A;Src64/+二重変異株で調べ、Src の活性の減少により、leading edge における、E-cadherin、Armadillo、F-actin のシグナルの著しい減少を見つけた。さらに shotgun のモザイククローンで、Src42A の膜への取り込みが著しく減少することを見いだした。これらの発見は、Src が、細胞間接着に必須な E-cadherin / Armadillo / F-actin 複合体の安定性をコントロールしていることを示している。物理的に Src と E-cadherin と Armadillo の可能な相互作用を調べるために免疫沈降を行い、Src と、E-cadherin、Armadillo が、相互作用することを見いだした。さらにより直接的な結合実験により、自己リン酸化部位を含む 14 アミノ酸と・・ カテニンが相互作用することを明らかにした。RNAi を用い、Src の活性が Armadillo のリン酸化に必要なであることを示した。

以上、高橋麻裕子は、Src が Armadillo と直接相互作用して、細胞間の接着をコントロールしていることを初めて個体レベルで明確に示した。本研究の成果は、Src 遺伝子の理解に対する重要な寄与であり、学位申請者の業績は博士（理学）の呼称を受けるのにふさわしいと審査員全員が判定した。なお、本論文は高橋史峰、小嶋徹也、程 久美子、西郷 薫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、高橋麻裕子に博士（理学）の学位を授与できると認める。