

論文審査の結果の要旨

氏名 武智 正樹

本論文は3章からなり、第1章はゼブラフィッシュ赤タイプ及び緑タイプ視物質遺伝子の発現パターンの解明について、第2章はゼブラフィッシュ青タイプ視物質遺伝子の発現制御領域の同定について、第3章はゼブラフィッシュ紫外線タイプ視物質遺伝子の発現制御領域の同定について述べられている。

色覚は動物の重要特徴であり、その進化過程の研究は動物の環境適応の仕組みを明らかにする上で究めて重要である。そのなかでも魚類の色覚は水中という多様性に富む光環境を反映して多様であることがこれまでに明らかにされてきており、動物の色覚進化研究の優れたモデルである。脊椎動物の視物質遺伝子は進化系統的に5タイプに分類される。これらは桿体に発現し薄明視を担う桿体タイプ(RH1)と、錐体に発現し色覚を担う赤タイプ(LWS)、緑タイプ(RH2)、青タイプ(SWS2)、紫外タイプ(SWS1)である。高等霊長類以外では魚類にのみ5タイプ内にさらにサブタイプの形成による視物質多様化が見られ、多様な水中光環境への適応と考えられるが、その実像と意義は不明なことが多かった。ゼブラフィッシュは赤タイプに2種類、緑タイプに4種類ものサブタイプを有する点で、サブタイプの発現パターンの subfunctionalization の優れたモデル系であり、一方単一コピーである青タイプ視物質遺伝子と紫外線タイプ視物質遺伝子はこれまで知見の不十分な錐体視物質遺伝子発現制御機構の研究に好適である。

論文提出者はゼブラフィッシュの赤タイプ及び緑タイプの各サブタイプ視物質遺伝子が時間空間的に異なる発現パターンを示すことを示した。具体的には胚と成魚に対してこれら重複遺伝子の発現パターンを *in situ hybridization* によって調べ、その結果、赤タイプ、緑タイプ共、より短波長感受型の遺伝子から順に発現が開始され、成魚では網膜の中央～背側領域と周縁部+腹側領域で発現する遺伝子のセットが異なることを明らかにした。ゼブラフィッシュは重複した視物質遺伝子が網膜でそれぞれ異なる時間空間的発現パターンを示すことにより、成長時期あるいは視野によって異なる色覚を有するように進化したことを示した。

青タイプ視物質遺伝子 *SWS2* については、硬骨魚類における上流配列を比較し、ゼブラフィッシュとニジマス間に上流領域の約 200bp に配列保存性を見出し、この約 200bp に実際に発現制御領域が存在するか確かめるため、ゼブラフィッシュにおける当該領域を GFP レポーターに繋いで受精卵に導入し、約1週間後の幼生における GFP 蛍光の有無を調べた。その結果、この領域は *SWS2* の発現を誘導できることを確認し、さらにこの領

域内に *SWS2* が他の種類の視細胞で発現しないために必要な領域や、網膜の双極細胞や脳の松果体での発現を抑制するシス調節エレメントを同定した。

紫外線視物質遺伝子の制御領域においても細胞種特異的な発現に必要な領域とそこでの発現を増強する領域の2つが存在することを世界でいち早く発見した。また、同領域を探索する過程で作出したトランスジェニックゼブラフィッシュはレポーター遺伝子である緑蛍光タンパク質 (GFP) を紫外線視細胞にのみ特異的に産生することを示し、網膜発生研究の重要なツールとなることを示した。

これらの成果はゼブラフィッシュをモデルとした視覚研究に強固で新たな基盤をもたらす重要な発見である。また、哺乳類以外での錐体視物質の制御領域の同定は世界で初であり、脊椎動物錐体視物質の転写制御機構解明にブレイクスルーをもたらしたといえる。

なお、本論文第1章は河村正二との共同研究、第3章は浜岡崇憲、河村正二との共同研究であるが、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。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。