

# 論文審査の結果の要旨

氏名 阿部 真典

本論文は五章からなる。第一章は序論であり、これまでに明らかとなっている動物の左右軸形成について、研究対象の巻貝 *L. stagnalis* についての知見を述べ、ポジショナルクローニングによる巻型決定遺伝子の同定を目指した計画のなかで、学位申請者の行った研究の位置づけを明らかにしている。第二章、第三章、第四章において、それぞれの研究について、序文、実験の部、結果と考察に従って述べられている。第五章に全体の結論と今後の展望について述べられている。

淡水産巻貝 *L. stagnalis* は、天然に同一種内で殻の巻型が右巻と左巻の個体が集団で存在する極めて稀な生物種である。この左右の巻型の違いは、一对の対立遺伝子座により決定され、右巻が優性で、巻型は母貝の遺伝子型によって決定されている。優性巻型決定遺伝子を持つ母貝が産卵した卵では右旋化因子が作られており、発生初期の卵割過程で機能することで、最終的に個体の左右巻型の違いが現れると考えられている。この巻貝の巻型決定機構の解明は、発生初期において、分子レベルで決定した左右極性が、個体レベルのキラリティーにつながる非常に興味深いテーマである。本論文ではポジショナルクローニングによる巻貝 *L. stagnalis* の巻型決定遺伝子の同定を目指し、そのために必要な研究を行っている。

第二章では、ポジショナルクローニングを行うために必要な、巻型決定遺伝子近傍の連鎖地図の作成について述べている。最初に、連続もどし交配実験から得られた F6 パネルを用いて、*EcoRI* / *MseI*-AFLP 連鎖マーカーの探索を行い、多数の組み換え個体を得ることができた。しかし、*EcoRI* / *MseI*-AFLP マーカーの巻型決定遺伝子からの遺伝学的距離が遠いため、得られた組み換え個体の詳しい組み換え位置を特定することができなかった。そこで、本研究では新たに *PstI* / *MseI*-AFLP による連鎖マーカーの作成を行い、もどし交配個体と *EcoRI* / *MseI*-AFLP で見つかった組み換え個体をうまく利用することで、効率的に巻型決定遺伝子に強く連鎖した *PstI* / *MseI*-AFLP マーカーを作成することに成功している。それによって、すべての巻型決定遺伝子に連鎖したマーカーの遺伝学的距離が判明することとなり、巻型決定遺伝子を挟んで、その領域に詳細な連鎖地図を作成することができている点で非常に意義がある。この連鎖地図と得られた組み換え個体を基に、ゲノム DNA ライブラリーを用いたクロモソームウォーキングが行われており、ポジショナルクローニングがさらに推し進められることにつながった。

第三章では、さらに今後の分子生物学的研究に必要な、遺伝的背景の均一な純系とコ

ンジェニック系統の作成も同時に進められており、遺伝子レベルで解析を行っていくうえで、実験系の整備がなされつつある。

第四章では、候補遺伝子から目的遺伝子を同定するための、遺伝子導入発現系の開発を行っており、産卵直後の第一極体放出前の受精卵に、蛍光タンパク質の mRNA をマイクロインジェクション法により導入することで、1 細胞期のうちに蛍光を観察することが可能な実験系を構築している。はじめて、巻貝種の初期発生胚で外来遺伝子を発現させることに成功しており、初期卵割過程の発生メカニズムが分子生物学的な手法で解析可能であることを示している。さらに、導入された蛍光タンパク質 mRNA の翻訳は、導入後の時間経過に従って一定レベルで行われ、翻訳量はインジェクションされた mRNA の量に依存しているという結果を得ている。それにより、胚の発生段階と mRNA の濃度を選択することで、外来遺伝子の翻訳量と、発現時期をコントロールすることが可能であり、今後、巻型決定遺伝子の同定に向けた遺伝子機能解析に応用されるものと考えられる。また、この手法は他の淡水産巻貝の初期発生胚においても適用可能であることを見出し、これらの胚発生過程を研究するための普遍的なツールとなることが期待される。

以上、本研究では巻型決定遺伝子の同定を目指し、ポジショナルクローニングを行うための連鎖地図の作成と、今後の機能解析に必要な遺伝子導入発現系の開発、および純系個体、コンジェニック系統の作出を行った。なお、本論文は、細入勇二、藤倉航平、清水美穂、黒田玲子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（理学）の学位を授与できると認める。