

論文審査の結果の要旨

氏名 佐藤 薫

本論文は3章からなり、第1章はカイコ無翅突然変異体 *flügellos (fl)* の原因遺伝子の同定について、第2章は *fl* の原因遺伝子 *Bmfng* のエクジソン応答性の解析及び *fl* 翅原基におけるエクジソン応答異常の解析について、第3章はカイコの翅などの組織分化における *fng* 依存的 Notch シグナルの必要性についての解析、について述べられている。

本研究で用いた *fl* は、カイコ連鎖地図の第10連鎖群 13.0 にマップされる劣性の自然突然変異体で、4つの系統が報告されている。*fl* の翅原基は終齢期以降の形態形成が進行せず、*fl* の蛹と成虫には翅が生じない。また、*fl* ではエクジソンに反応して発現誘導される初期後期遺伝子 *BHR3* などの発現が翅原基特異的に低下するなど、変態時のエクジソン応答に異常がみられ、このため、翅原基の組織分化が進行せず、翅が形成されないことが示唆されている。この *fl* の原因遺伝子と機能が明らかになれば、昆虫ホルモンと翅のパターン形成との接点を見出すことができると考えられた。そこで、まず *fl* の原因遺伝子をポジショナルクローニングによって同定することにした。先行研究で、4つの *fl* 系統のうち、*f^l* ゲノムでは *fl* 遺伝子座と同一染色体上に大規模な欠失があり、*fl* の原因遺伝子はこの欠失内に存在すると考えられた。そこで、カイコ BAC ライブラリーを用いてゲノムウォーキングを行い、*f^l* ゲノムの欠失内に存在する遺伝子を枚挙し、それぞれの *fl* 系統での変異を解析した。その結果、Notch シグナルの制御に関わる *fringe (fng)* 遺伝子 (*Bmfng*) に、すべての *fl* 系統で欠失などの機能欠損型の変異がみられた。これらの結果から、*Bmfng* が *fl* の原因遺伝子であると結論付けた。

fl の翅はエクジソンに反応して発生しないことから、*Bmfng* はエクジソン応答カスケードと何らかの関連性をもつと考えた。そこで、翅原基の *in vitro* 培養系を用いて *Bmfng* のエクジソン応答性を調べたところ、*Bmfng* がエクジソンによって誘導されることがわかった。エクジソンによる *Bmfng* の発現誘導が、*BHR3* などの初期後期遺伝子の発現促進にとって重要であると考えられる。本研究により、エクジソンによる *Bmfng* の発現制御を介して、翅のパターン形成に重要な Notch シグナルとエクジソン応答カスケードが関連していることが示された。

Notch シグナルは生物種を越えて保存された細胞間シグナル伝達系の一つであり、様々な組織の発生過程で重要な役割を果たしている。*fng* は Notch タンパク質の O-フコース型糖鎖をグリコシル化することで、Notch とリガンドとの結合性を変化させ、最終的に Notch シグナルの下流に影響を及ぼす。ショウジョウバエでは *fng* の糖鎖修飾の機能に依存した Notch シグナルが様々な組織の正常な発生分化に必須であり、機能欠損型の *fng* 変異体は致死になる。一方、カイコの *fl* では *Bmfng* は機能欠損しているにも関わらず、翅のみが異常となる。両者の違いが生じる可能性として二つ考えられた。一つの可能性は、カイコでは翅原基以外の組織でもショウジョウバエと同様の発生機構が働いているが、翅原

基以外の組織では *Bmfng* 以外の遺伝子が Notch の O-フコース型糖鎖修飾を補填することでシグナル伝達自体が正常に駆動しているということ、第二の可能性は、カイコでは翅原基以外の組織の発生分化がショウジョウバエとは大きく異なり、*fng* 依存的な Notch シグナルの代わりに *fng* の機能に依存しない Notch シグナルが使われていること、である。第一の可能性を検証するため、レクチンを用いて *fl* の様々な組織における Notch タンパク質の糖鎖異常を解析し、第二の可能性を検証するため、翅原基を含む様々な組織における Notch シグナルの活性化の状況を野生型カイコと *fl* とで比較解析した。その結果、*fl* の翅以外の組織では、Notch タンパク質の糖鎖修飾は行われていないにもかかわらず、Notch シグナル自体は野生型カイコと同程度に活性化していた。このことから、翅原基では *fng* 依存的な Notch シグナルが主要であるのに対し、それ以外の組織では *fng* 非依存的な Notch シグナルが主要であることが示唆された。このことが、*fl* で翅以外に目立った異常がみられない大きな要因となっていると考えられ、翅以外の組織については、カイコとショウジョウバエで異なる機構によって発生することを示唆している。

なお、本論文第 1 章は、松永朋子、二橋亮、小嶋徹也、三田和英、伴野豊との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析した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。