

## 論文審査の結果の要旨

氏名 高山 順

本論文は6章からなる。第1章は序論であり、研究の主題および手法の背景を概説している。具体的には神経細胞の個性獲得メカニズムの解析に線虫 *Caenorhabditis elegans* を用いることの利点が述べられ、ついで線虫の感覚神経系の構成・機能とその分化メカニズムについて、および細胞特異的遺伝子発現プロファイリングを行う既存の手法について述べている。また研究の対象として左右一対の味覚神経 ASEL 細胞と ASER 細胞が異なる機能を持つことを挙げ、その運命決定メカニズムおよび機能的差異を実現する分子メカニズムの解明を目的としている。第2章は材料と方法である。主に単一細胞からの転写産物の抽出方法、プロモーター融合蛍光レポーター実験の方法、DNA モチーフ解析の原理、化学走性アッセイおよび遺伝子導入による表現型レスキュー実験について述べられている。第3章は結果と考察であり、大きく分けて以下の5点について述べられている。第一に単一神経細胞からの転写産物抽出の戦略について述べられている。すなわち RNA 結合性タンパク質を特定の細胞に発現させ、免疫沈降法により抽出した RNA・タンパク質複合体から転写産物を精製する手法について説明し、本手法を単一の感覚神経細胞に適用した際の評価を行っている。第二にマイクロアレイ法および蛍光レポーター実験による、細胞特異的な発現を示す新規遺伝子の同定について述べられている。マイクロアレイは蛍光色素の交換を含む系統的な実験計画に基づいて行われている。また数十の遺伝子について発現解析を行い、ASEL 細胞および ASER 細胞に発現する遺伝子を複数同定したことが報告されている。第三に左右非対称な細胞特異的遺伝子発現を制御する分子メカニズムの解析について述べられている。既知の分化メカニズムに関わる遺伝子の変異体を用いて発現解析が行われ、ASE 細胞の運命決定を制御する機構の普遍性が示されている。第四に DNA モチーフの構成から細胞分化を説明する仮説が提示されている。すなわち左右非対称に発現する遺伝子のプロモーター領域を解析することで、ASE モチーフと呼ばれる塩基配列の構成と細胞特異的発現の間に相関を見だし、またモチーフの配列および数を変化させることで、発現パターンに仮説から予想される変化が生じることを示している。第五に感覚神経細胞特異的に発現する膜貫通型グアニル酸シクラーゼ(GCY)の機能解析について述べられている。ASEL 細胞に特異的に発現する

GCY-14 が特定のイオンの受容に関与し、また細胞自律的に機能することを示している。さらに変異型グアニル酸シクラーゼを用いた実験により、機能ドメインの特定およびヘテロ二量体として機能する可能性の指摘を行っている。第4章は結論であり、単一神経細胞の遺伝子発現プロファイリングが細胞の運命決定機構および細胞固有の機能を実現する分子メカニズムの解明に役立つ手法であることが述べられている。第5章では謝辞が述べられている。第6章は参考文献である。

既存の研究と比較した際、本研究の新しい点または意義のある点として以下の5点が挙げられる。第一に単一の神経細胞から転写産物を抽出するというこれまで成し遂げられていなかった手法を確立したことである。第二に本手法を適用することで線虫の左右一对の味覚神経細胞の遺伝発現を網羅的に比較し、各細胞に特異的に発現する遺伝子を新規に複数同定することに成功したことである。第三にこれらの遺伝子の制御機構を解析することにより、既知の分化メカニズムの一般性を示したことである。第四にプロモーター領域の解析から、左右非対称な遺伝子発現を実現する分子メカニズムについて新規の仮説を提示し、また検証実験を行ったことである。本仮説はDNAモチーフの塩基構成およびモチーフの個数から細胞分化を説明するという点で独特のものである。第五に膜貫通型グアニル酸シクラーゼが特定のイオンの受容に必要であることを示し、変異型グアニル酸シクラーゼを用いた解析からその機能様式について推測したことである。特に、膜貫通型グアニル酸シクラーゼが外界の金属イオンを認識する新たな化学受容体分子として機能する可能性に言及している点が重要である。

なお、本論文は、Serge Faumont, 國友博文, Shawn R. Lockery および飯野雄一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。