

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 中崎 歩

Mab21 遺伝子のノックアウトマウスは、主に骨形成異常、水晶体や網膜の形成異常、生殖器である包皮腺の形態異常、乳腺と乳頭の形態異常、腹部体壁の内臓ヘルニアや、心臓の心室や心房の薄化が観察される。*Mab21* 遺伝子は、マウス発生過程で様々な器官の形成に関与し発生や生命維持に重要な機能を担っていることがノックアウトマウスの解析から明らかとなっているが、*Mab21* 遺伝子産物は他の遺伝子産物と比較して、既知のモチーフやドメイン構造が見出されていなため、その分子レベルの機能は明らかにされていない。*Mab21* 遺伝子の分子機能を明らかにすることは、生物の発生を理解する上で重要であると考えられる。本研究では、*Mab21* 遺伝子との相互関係がある遺伝子の予測や、*Mab21* 遺伝子の制御機構などの詳細な知見を得るために、細胞系譜や発生に関与する因子の発現時期や発現パターンが細胞レベルで調べられているホヤに注目し、マボヤとカタユウレイボヤにおける *Mab21* 遺伝子の発現時期や発現パターンの解析を試みている。

第一章では、マボヤの *Mab21* 遺伝子の単離と発現パターンの解析を行い、線虫やマウスやカタユウレイボヤなどの生物種と遺伝子構造の保存性やアミノ酸配列の相同性を比較している。まず、マボヤのゲノムライブラリーを用いてカタユウレイボヤのエクソンの一部をプローブとしライブラリーをスクリーニングし、マボヤ *Mab21* ゲノム DNA を単離、遺伝子構造を明らかにしている。その結果、マボヤ *mab21* 遺伝子がゲノム上 3464bp にわたって 6 つのエクソンからなり、脊椎動物の *Mab21* 遺伝子と同様に、359 アミノ酸で構成されるタンパク質をコードすることを明らかにしている。アミノ酸配列の相同性は、マボヤーマウス間では、*Mab21l1* とは 66%、*Mab21l2* とは 65% と種間で高い相同性を示すことを明らかにしている。また、whole mount *in situ* hybridization 法を用いて、初期胚におけるマボヤ *Mab21* 遺伝子の発現パターンの解析を行い、初期尾芽期や中期尾芽期において、予定脳胞領域にある感覚器の平衡器や眼点の周辺で発現していることを明らかにし、*Mab21* 遺伝子が感覚器の形成に関与している可能性を考察している。

第二章では、第一章と同様に whole mount *in situ* hybridization 法を用いて、カタユウレイボヤの受精卵から幼生期における *Mab21* 遺伝子の発現パターンの解析を試みている。その結果、マボヤと同様にカタユウレイボヤにおいても、中期尾芽期や後期尾芽期におい

て、予定脳胞領域にある感覚器の平衡器や眼点の周辺で発現していることを示している。カタユレイボヤの遊泳幼生の眼点は、単一の色素細胞からなる眼杯と 3 個のレンズ細胞と眼杯に付随する 30 個程度の視細胞で構成され、レーザーによる眼点の破壊実験と行動解析により眼点が遊泳行動の光応答に関与していることが明らかにされているが、幼生期における *Mab21* 遺伝子の発現は、眼点の色素細胞に付随することを確認しており、ホヤの視細胞のマーカー遺伝子として知られているアレスチン遺伝子やオブシン 1 遺伝子との二重染色により、*Mab21* 遺伝子が視細胞の一部で発現していることを明確にしている。

第三章では、第一章と第二章の結果をふまえ、*Mab21* 遺伝子群の構造とアミノ酸配列の保存性の考察を行い、加えて *Mab21* 遺伝子の種を超えた共通の機能の予測を行っている。*Mab21* 遺伝子のノックアウトマウスは、様々な器官形成不全を示すが、水晶体や網膜の形成に著しい異常を示す。*Mab21* 遺伝子はホヤで視細胞や視細胞の前駆細胞で発現し、視細胞の形成に関与している可能性が考えられ、ノックアウトマウスの解析から *Mab21* 遺伝子が網膜の形成に必須な遺伝子であることから、進化の過程で網膜の形態や機能の獲得に *Mab21* 遺伝子が必要であることを考察している。

本論文では、*Mab21* 遺伝子の詳細な分子機能を解析するまでに至っていないが、ホヤを用いて *Mab21* 遺伝子の発現パターンを詳細に解析しており、*Mab21* 遺伝子が種を越えて眼の形成に関与している可能性を明らかにしている。この成果は、生物の発生過程で重要な機能を担っている *Mab21* 遺伝子の分子機能の理解する上で基礎情報になると考えられた。また、この成果は、生物の眼の形態形成の理解に貢献するものであると考えられた。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。