

## 論文審査の結果の要旨

氏名 小木曾 由梨

□本論文は7章からなる。第1章は序論、第2章は材料および方法、第3章は結果、第4章は考察、第5章は結論、第6章は謝辞、第7章は引用文献について述べられている。

□生物の発生過程において、モルフォゲンで総称される一群の分泌蛋白質の濃度勾配によって形態形成のパターンが形成されることが知られている。しかしながらモルフォゲン及びその信号伝達の構成因子の遺伝子のコピー数が変化しても、最終的なパターンは安定に保たれることが知られている。これはモルフォゲンの活性レベルによる体構造の決定機構と矛盾するように思われる。これまで、理論的な解析により、遺伝子量変化にかかわらず、安定な体構造を形成する機構が示唆されてきたが、実験的な証拠はほとんど得られていない。本論文の申請者、小木曾はショウジョウバエの翅を用い、代表的なモルフォゲンであるBMPホモログ、Decapentaplegic (Dpp)の受容体 *thickveins* (*tkv*) 遺伝子の発現量を変化させた時の、Dppモルフォゲンの補償機構を研究した。本研究ではDppシグナルの伝達因子であるMothers against dpp のリン酸化 (pMad) レベルをモルフォゲンの指標として用いた。

□野生型から *tkv* 遺伝子を1コピー減らすとpMadのレベルは変化するが、*tkv* 遺伝子を1コピー増やしてもpMadのレベルは変化しないことを見いだした。この知見をより深く解析するために更に高いレベルの *tkv* を発現する実験系を構築した。この系では *tkv* 変異のバックグラウンドで、*ubiquitin* 遺伝子のプロモーター下で *tkv-HA* (*ubi-tkvHA*) を一様に高レベルで発現させるとともに、その発現量をHAに対する抗体を用いて定量することができる。この実験系では、Dpp発現細胞における *tkv* のレベルは内在性のそのレベルの約10倍になっている。この系でpMadのレベルを測定すると、*tkv* が遥かに高いレベルであるにもかかわらず、野生型のレベルとほぼ同じであることを示した。また、*ubi-tkvHA* のコピー数を更に2コピー、3コピーと増やしても、pMadのレベルは一定に保たれることを見いだした。これらの結果から、*tkv* の発現レベルを野生型より大きく増やしてもpMadのレベルは一定に保たれることを明らかにした。

□ この機構を説明するために小木曾は、pMadのレベルを一定に保たせる補償機構としてInhibitory Smadである *daughters against dpp* (*dad*) 遺伝子に着目した。

*dad*はDppシグナルにより活性化され、Madのリン酸化を抑制する因子で、これによりネガティブフィードバック機構を形成すると考えられてきた。*dad*変異下で、*tkv*のコピー数を増加させたところ、pMadのレベルが増加することを見いだした。更に、*tkv*のコピー数増加に伴い、*dad-lacZ*のレベルが増加したことから、*tkv*のコピー数が増加するに伴い、Dadのレベルが増加し、ネガティブフィードバックの効果が大きくなるため、pMadは一定に保たれることが示唆された。本論文は、Dadの発見以来、提唱されていたモルフォゲンの作用におけるネガティブフィードバック機構が実際に機能することを初めて実験的に示したものであり、その生物学における寄与が評価されるものである。

□また、*tkv*のコピー数を全体的に増加させてもpMadは変化しない一方で、体細胞クローンを用いて*tkv*を局所的に増加させるとpMadも増加することを示した。この結果から、全体的なコピー数の変化は補償するが、局所的なコピー数の変化は体構造に反映させるような機構の存在が示唆された。このことはモルフォゲン機能の2面性を示している。すなわち、局所的なシグナル強度の変化に対応して体構造を形作る一方、コピー数の変化のような全体の変化に対しては補償機構を作動させることにより、発生メカニズムをロバストに保っている。この違いを生み出す機構については今後の課題としている。

□理論、実験の組み立ては十分高い水準にあり、実験結果は明快なデータによって示されている。本論文の成果は、ショウジョウバエだけに限らず、パターン形成の安定性を司る普遍的なメカニズムの解明に資するところが大きい。なお本論文は常泉和秀博士、増田直紀博士、佐藤純博士、多羽田哲也博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

□したがって、本研究は博士(理学)の学位に値するものとする。