

## 論文審査の結果の要旨

氏名 本間 泰平

本論文は四章からなる。第一章は序論であり、前半部では動物の左右性に関する知見が脊椎動物の研究事例を中心に概説されている。後半部では研究対象とした巻貝左右性の背景が述べられ、本論文の着眼点および左右性研究における位置付けが明確にされている。本論文では巻貝左右性研究の観点から細胞極性因子 Par6-aPKC の解析が行われた。第二章で実験材料と方法が説明され、第三章では実験結果およびそれに基づく考察が述べられている。第四章には結論が示され、本論文を総括した上での考察と展望が述べられている。

巻貝 *Lymnaea stagnalis* は、天然に右巻型と左巻型の系統が共存する極めて稀な生物種である。*L. stagnalis* の左右は一对の対立遺伝子座によって決められ、この遺伝子座の作り出す巻型決定因子が初期胚の左右軸形成を制御していることが明らかにされている。巻型決定因子の正体は未だ明らかにされていないが、らせん卵割における第三卵割の旋性を決定していること、およびその第三卵割の細胞骨格動態を制御していることが分かっている。第三卵割では、遺伝的優性の右巻胚において spiral deformation (SD) とよばれるアクチン依存性の細胞形態変化が右旋化を誘導している。*L. stagnalis* は、脊椎動物と共通の左右軸形成機構である Nodal-Pitx 経路を持ちつつも、第三卵割という発生のごく初期に左右性が顕在化する点で、動物左右性の研究にとってユニークかつ大変興味深い系である。本論文は巻型決定因子による発生初期左右形成機構の解明を目指し、第三卵割の細胞骨格動態に焦点を合わせた研究を行っている。巻型決定因子と協調して細胞骨格動態を制御する因子の候補として、極性タンパク質の Par6、aPKC の解析が行われた。

第三章では *L. stagnalis* Par6、aPKC それぞれの解析結果が報告されている。

Par6 は初期胚免疫染色により微小管構造上に局在することが明らかにされた。微小管構造への局在は細胞周期、発生ステージを通じて維持されており、これは他生物種の Par6 には見られない特徴であった。微小管構造である分裂装置は第三卵割時に巻型決定因子とリンクしたキラルな配向を示す。この構造上に極性タンパク質の局在が見られたことは、左右性と極性形成の関連を予想させる重要な知見である。さらに、タンパク質結合解析実験により、*L. stagnalis* Par6 が微小管およびチューブリンと直接結合することが証明された。Par6 はまた *in vitro* で微小管の束化を促進し、MAPs (microtubule-associated proteins) 様の振る舞いをすることが示唆された。微小管結合能は Par6 内に二か所存在し、これが微小管束化機能に寄与している可能性が考察

されている。本論文で明らかにされた Par6 分子と微小管との高い親和性は、他生物種も合わせ初めての報告例であり、左右性のみならず細胞極性研究の観点からも非常に意義深いものである。

*L. stagnalis* aPKC は免疫染色により、M 期微小管構造に局在することが示された。すなわち、分裂装置上に極性因子 Par6、aPKC がともに局在することが明らかにされ、極性因子と微小管細胞骨格との相互作用がより強く示唆された。活性化型 aPKC の局在も分裂装置中心体に観察され、分裂装置上での極性因子の働きが予想された。阻害剤を用いた aPKC の機能解析では、aPKC の阻害が *L. stagnalis* 胚第三卵割の旋性をランダムイズさせることが明らかにされた。aPKC の阻害は第三卵割期の細胞骨格動態である SD も抑制した。これは巻貝左右性に対する極性タンパク質の機能的な関与を指摘した初めての例である。aPKC の阻害がアクチン細胞骨格の表現型として現れることも見出され、収縮環形成における aPKC の役割が考察されている。

以上本論文では巻貝 *L. stagnalis* の Par6、aPKC を解析し、これら極性タンパク質と巻貝左右形成との関連性を強く示唆する結果が得られた。これは巻型決定因子の機構と細胞極性を結びつける新しい知見であり、今後の展開が期待される。

なお、本論文は清水美穂、黒田玲子との共同研究であるが、論文提出者が主体となつ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。