

人間科学研究科長殿

嶋 誠悟氏 博士学位申請論文審査報告書

嶋 誠悟氏の学位申請論文について、下記の審査委員会は人間科学研究科の委嘱を受け審査してきましたが、2007年6月29日に審査を終了しましたので、ここにその結果をご報告します。

記

1. 申請者氏名 嶋 誠悟
2. 論文題名 キイロショウジョウバエ *fruitless(fru)* 遺伝子の機能に影響を与える遺伝子の探索と *Trf2* 遺伝子の研究

3. 本文

動物の行動の多くは生得的であり、遺伝的なプログラムに基づいて生み出されると考えられるが、どのような遺伝子が実際に関与しているのかについては、ほとんど不明である。行動と特異的な関係を持つ遺伝子としてその実体が解明されている稀な例の一つに、キイロショウジョウバエの *fruitless(fru)* 遺伝子がある。*fru* 遺伝子の機能が失われた *fru* 突然変異体の雄では、性指向性が異性愛から同性愛に転換し、その結果不妊となる。*fru* 遺伝子産物は、N 末端に BTB ドメイン、C 末端に Zinc finger モチーフを持つことから、転写因子と推定されている。したがって、その標的遺伝子の探索を通じて、性指向性の決定に関わる一連の分子群を同定することが可能であり、さらには異性とつがう行動を支える遺伝的プログラムの全体像を解明できると期待できる。嶋氏はこの考えに基づき、*fru* 遺伝子の下流で働く可能性のある因子群の分離同定を試み、その有力な候補として *Trf2* 遺伝子を見出した。

嶋氏がとったアプローチは、キイロショウジョウバエの複眼をいわば「試験管」として使い、*fru* 遺伝子の作用を表現型レベルで修飾する遺伝子を探索するというものである。すなわち、正常型の *fru* 遺伝子(*fru⁺*)を発生途上の複眼原基に強制発現させると、成虫の複眼の構造が極度に異常になること(粗眼形質)を利用し、*fru⁺*と同時に任意の遺伝子を複眼原基に強制発現させることによって、*fru⁺*の粗眼誘導作用を抑制する遺伝子をスクリーニングしたのである。ゲノム中の任意の遺伝子を強制発現させる方法としては、“Gene Search System”が用いられている。Gene Search System は染色体の任意の位置に外来のプロモータ配列である UAS を挿入し、挿入点隣接配列を人為的に転写させるもので、すでに多数の UAS 挿入系統(GS 系統)のキイロショウジョウバエが作成されており、利用できる。この方法は、個体を用いた遺伝子操作が容易なキイロショウジョウバエの長所をたくみに利用したものといえる。そして、嶋氏は約 1,000 のゲノムの配列を強制発現させた結果、約 30 の配列が *fru⁺*で誘導される粗眼形質を抑制することを見出した。同一の遺伝子の転写を誘導すると期待される複数の GS 系統を用いて、これら約 30 の候補遺伝子の *fru⁺*に対する抑制効果を精査した結果、これらのうちの一つである *Trf2* 遺伝子が単独で *fru⁺*による粗眼形成を強力に抑圧することを見出した。

Fru タンパク質と同様に BTB ドメイン、Zn-finger モチーフを持つ Tramtrack(Ttk)タンパク質も、複眼原基に強制発現させると粗眼形質をもたらす。*Trf2* はこの *ttk⁺*によって誘

導される粗眼形質に対しては、まったく影響を与えないことから、その *fru*⁺への抑制効果は特異的なものであると言える。

複眼形態を指標とすることは、効率がものを言う上記のような大規模スクリーニングでは、最善の戦術である。しかし複眼は *fru* 遺伝子が本来機能を果たしている器官ではないため、複眼で観察された相互作用がアーティファクトであるという危険性も払拭できない。そこで嶋氏は、運動ニューロンに発現する *fru*⁺が雄特異的筋肉であるローレンス筋の誘導を引き起こすことを利用して、*fru*⁺のこの作用に対する *trf2* 遺伝子変異の効果を遺伝学的に検討し、*fru* 突然変異体に見られるローレンス筋形成不全が、*Trf2* 変異によって有意に増強されることを明らかにした。これによって、*Trf2* が *in vivo* で *fru*⁺と相互作用し、*fru*⁺の性特異的機能の実現に寄与することが確実となった。

この実験に先立ち、嶋氏が *Trf2* 遺伝子の機能喪失変異体を自ら分離していることも特筆すべきである。*Trf2* 遺伝子は TBP と呼ばれる基本転写因子のホモログをコードするものとして当初同定された。そのため、タンパク質レベルでの研究は比較的進んでいるものの、個体レベルでの機能解析は従来ほとんどなされておらず、*Trf2* 遺伝子座の突然変異体はまったく知られていなかった。そこで嶋氏は、*Trf2* 遺伝子の転写開始点上流側に P 因子挿入の生じているショウジョウバエ系統をゲノムデータベース上で検索して収集し、その各系統について *Trf2* 遺伝子の転写レベルを RT-PCR によって解析した。その結果、*Trf2* 遺伝子座の突然変異体を 2 系統分離することに成功した。これら二つの系統の詳細な観察から、*Trf2* 遺伝子座の突然変異体が、蛹の前部気門の反転異常を共通して示すこと、正常型 *Trf2* 遺伝子 (*Trf2*⁺) の強制発現によって、この前部気門の形成異常を救済することが可能であることを示し、*Trf2* 遺伝子座と気門の形成との因果関係を確定するに至っている。注目すべきことに、*fru* 遺伝子座を欠失したショウジョウバエ個体も同様に蛹の前部気門の反転異常を示す。この事実は、*Trf2* と *fru* とが、生体内で確かに相互作用を有していることを示唆する。

Trf2 遺伝子産物は他の転写因子群と複合体を形成して染色体の高次構造、クロマチンの状態変化を引き起こすことが知られている。*Trf2* 遺伝子と *fru* 遺伝子とが相互作用を示すという嶋氏の発見により、*fru* 遺伝子が染色体のクロマチン構造を修飾して多数の下流遺伝子の転写を同時に制御し、それにより複雑な行動を生み出す脳の神経回路の構築を総体として規定する可能性が浮かび上がってきた。

このように嶋氏の研究成果は、従来不明であった行動の遺伝的プログラムの、マスターコントロール遺伝子として働く遺伝子(例えば *fru*)の作用によって開始される一連の下流遺伝子群の階層的活性化(あるいは不活性化)から成り立っているとする仮説に、有力な実験的証拠を提供するものであり、その意義は極めて大きい。したがって、本審査委員会は嶋氏の論文が博士(人間科学)の学位を授与するにふさわしい内容を備えたものと認める。

4. 嶋 誠悟氏 博士学位申請論文審査委員会

主任審査員 早稲田大学 教授 理学博士 (東京大学) 木村 一郎
審査員 東北大学 教授 理学博士 (北海道大学) 山元 大輔
審査員 早稲田大学 教授 薬学博士 (九州大学) 柴田 重信