

論文内容の要旨

申請者氏名 吉兼 奈美

翻訳反応は mRNA とたんぱく質との結合が開始律速段階であり、ループを形成して反応は進行することが電子顕微鏡で確認されている。翻訳開始複合体のコアたんぱく質は eIF4G (eucaryotic initiation factor 4G) とされている。eIF4G たんぱく質にさらに他のたんぱく質やリボソームが結合し、そこへ mRNA が会合して翻訳開始複合体を形成する。NAT1 は、この eIF4G のカルボキシル末端 2/3 に相同性を有するたんぱく質であり、翻訳反応を制御していると考えられているが、詳細は不明であった。NAT1 のノックアウトマウスは E7.5 から E9.5 にかけて中胚葉誘導異常を引き起こして致死となる。また NAT1^{-/-} の ES 細胞はレチノイン酸による分化誘導に応答せず、未分化状態を保って増殖する。本研究では、NAT1 の機能が種を超えて保存されたものなのかをショウジョウバエ相同遺伝子 (*dNAT1*) を用いて解析し、その機能を同定することを目的とした。

NAT1 の最も強いアレル (GS1) は、胚発生期にすべて致死となる。胚帯の伸縮は正常に始まるが、途中で停止し退縮が起こってしまう。これはちょうど中胚葉形成期にあたる。また、GS1 アレルはこのような重い表現型にも関わらず、クチクラを形成することができる。しかし、体節ごとに形成される樹状突起は約半分に減少しており、頭部側の方が表現型が重かった。これは、胚帯の移動が正常に起こらないことを反映した表現型と考えられる。

NAT1 の弱いアレルは胚発生期から徐々に個体数が減少していき、6 割は変態期に致死となる。幼虫組織の幹細胞に当たる成虫原基は分化して表皮や神経組織を形成していた。一方、その分化速度は遅かったと推定され、頭部、胸部領域の極端に狭い個体が観察された。また、幼虫組織の分解が抑制されていた。そこで、変態を制御するホルモン、エクジステロイドの下流因子の発現時期と強度を測定したところ、ホルモンの放出時期が異常であり、その下流因子の発現パターンもランダムに乱れていることが分かった。

以上の結果より、NAT1 の保存された機能は核内レセプター型のホルモン応答の異常を引き起こす可能性が示唆された。また、機能欠失変異体の中胚葉誘導期に致死となることから、中胚葉形成に関与している可能性が示唆された。さらにこのような *dNAT1* 変異体の表現型解析から、*dNAT1* は翻訳制御においてその全般というよりもむしろある特異的な役割を担っているものと考えられた。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 吉兼 奈美

NAT1 のノックアウトマウスは E7.5 から E9.5 にかけて中胚葉誘導異常を引き起こして致死となることが分かっている。また NAT1-/- の ES 細胞はレチノイン酸による分化誘導に応答せず、未分化状態を保って増殖することが分かっている。しかし、ショウジョウバエ NAT1 は全く報告がなく、その表現型は全く明らかになっていなかった。また、マウスでの報告が NAT1 の種を超えて共通する機能なのかどうかも全く明らかでなかった。

申請者はトランスポゾンに注目し、ショウジョウバエ NAT1 近傍にトランスポゾンの挿入した系統を収集した。また、トランスポゾン除去することによってゲノム欠失を引き起こし、新たな変異体を作製することに成功した。得られたアリの致死となるステージを解析したところ、大きく分けて二つの時期・胚発生期と変態期に *dNAT1* 変異体は致死となることが分かった。

次に胚発生期の表現型を詳細に知るために、申請者は野生型と *dNAT1* 変異体のタイムラプス観察を行った。ショウジョウバエでは、卵殻を取り除いても油のなかで胚は正常に発生することが知られている。タイムラプス観察の結果、*dNAT1* 変異体では胚帯の伸縮は正常に始まるが、途中で停止し退縮が起こってしまうことが明らかとなった。このような重い表現型にも関わらず、クチクラを形成することができる。しかし、体節ごとに形成される樹状突起は約半分に減少しており、頭部側の方が表現型が重かった。

次に蛹形成期の表現型を詳細に知るために、申請者は野生型と *dNAT1* 変異体の時期ごとの解剖を行った。幼虫組織の幹細胞に当たる成虫原基は分化して表皮や神経組織を形成していた。一方、その分化速度は遅かったと推定され、頭部、胸部領域の極端に狭い個体が観察された。また、幼虫組織の分解が抑制されていた。そこで、変態を制御するホルモン、エクジステロイドの下流因子の発現時期と強度を測定したところ、ホルモンの放出時期が異常であり、その下流因子の発現パターンもランダムに乱れていることが分かった。

これらの結果は、報告されている翻訳開始因子の表現型とは異なり、NAT1 は特異的な翻訳制御をしている可能性が示唆しており、今後の研究が期待される。

以上のように、本論文はショウジョウバエにおける NAT1 の機能を初めて報告したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。