

Title	A novel <i>Drosophila</i> paired-like homeobox gene related to <i>Caenorhabditis elegans unc-4</i> is expressed in subsets of postmitotic neurons and epidermal cells
Author(s)	田淵, 克彦
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41682
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について〈/a〉をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	田 淵 克 彦
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 14440 号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生理系専攻
学位論文名	A novel <i>Drosophila</i> paired-like homeobox gene related to <i>Caenorhabditis elegans unc-4</i> is expressed in subsets of postmitotic neurons and epidermal cells (特定の分化したニューロンと表皮で発現する線虫 <i>unc-4</i> 遺伝子類似のショウジョウバエの新規ペアード様ホメオボックス遺伝子の単離と解析)
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 栄之 (副査) 教授 内山 安男 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

【目的】

申請者は、神経回路網の形成メカニズムに興味を持ち、ショウジョウバエをモデルとして、以下の2つの観点からメカニズムの解明に迫った。

(I) 神経回路網形成の基本単位であるニューロンの分化の特異性決定のメカニズムの探求：

ペアード様ホメオボックス遺伝子群は、特定の細胞で発現し、細胞に特異性を与えるとともに、終分化に役割を果たしていることが知られている。申請者は、ニューロンの特異性の決定機構を明らかにする目的で、特定のニューロンで発現するペアード様ホメオボックス遺伝子を単離し、解析した。

(II) シナプスを介した神経回路網を可視化する技術の開発：

ショウジョウバエの神経系は脊椎動物のものと比較して形態的に大きく異なっており、また個々のニューロンの機能的神経回路における役割もあまり分かっていない。ショウジョウバエを用いて神経系を研究するうえで、特定のニューロンが形成する神経回路を可視化することは極めて重要である。植物レクチン WGA は脊椎動物において、脳内に注入するとニューロンに取り込まれ、シナプスの末端からシナプス標的細胞へ輸送されることが知られている。申請者は、ショウジョウバエのシナプスを介した神経回路網を可視化する技術を開発する目的で、WGA に着目して研究を行った。

【方法ならびに成績】

(I) *DPHD-1* 遺伝子の単離と解析：

ペアード様ホメオボックスの塩基配列のうち、複数の遺伝子間で保存されている部分をもとにして degenerative PCR プライマーを合成し、胚発生のショウジョウバエから抽出した mRNA を鋳型として RT-PCR を行った。

PCR 産物の中に、線虫の VA 運動ニューロン特異的に発現して、VA 運動ニューロンの分化特異性の決定に関与していることが知られている *unc-4* 遺伝子と相同性の高いクローンが存在し、*DPHD-1* 遺伝子と名付けて解析した。PCR 産物をプローブとして胚発生のショウジョウバエの cDNA library をスクリーニングして 1.8kb の cDNA 断片を得た。この cDNA 断片をプローブとして、*in situ* ハイブリダイゼーションを行ったところ、*DPHD-1* 遺伝子は胚発生のショウジョウバエの中枢神経系において、各体節ごとに繰り返しパターンで特定のグループのニュー

ロンで発現していることが判明した。また、頭部体節と腹部体節の表皮でも発現が検出された。体節の、後部コンパートメントのマーカである抗 Engrailed 抗体との 2 重染色により、中枢神経系での発現は、後部コンパートメント、表皮での発現は前部コンパートメントであることが判明した。中枢神経での発現は、幼虫期でも認められた。

(II) GAL4/UAS-WGA システムの開発とシナプス標的の可視化：

WGA をコードする遺伝子を、酵母の転写因子 GAL4 の標的配列 UAS の下流に有する遺伝子をショウジョウバエに導入し、系統化した (UAS-WGA)。成虫の外側光受容体特異的 GAL4 系統、Rh1-GAL4 と UAS-WGA を交配することにより、WGA を成虫の外側光受容体特異的に導入した。この系統の頭部の切片を抗 WGA 抗体を用いて免疫染色することにより、WGA の輸送を観察した。外側光受容体の軸索は、視葉板と呼ばれる構造で終始しているが、WGA のシグナルは、2 次ニューロンの軸索が存在する視髄でも検出されたことから、WGA は外側光受容細胞において、1 次ニューロンから 2 次ニューロンへ輸送されることが明らかとなった。

【総括】

(I) 中枢神経系における *DPHD1* 遺伝子の発現は、線虫 *unc-4* 遺伝子の発現パターンと関連していることから、*DPHD-1* 遺伝子は *unc-4* 遺伝子と同様のメカニズムで、発現ニューロンの特異性の獲得に寄与している可能性が示唆される。また、表皮での発現は、ペアード様ホメオボックス遺伝子である *aristalless* 遺伝子と相補的であり、個々の細胞で異なるペアード様遺伝子が発現することによって、細胞の特異性が決定されている可能性が示唆される。

(II) 我々は、WGA トランスジーンを用いることにより、トランスジーン導入細胞のシナプス標的も標識する方法を開発することに成功した。この方法は、今後のショウジョウバエを用いた神経研究に広く役立つと考えられる。

論文審査の結果の要旨

申請者は、(I) *unc-4* 遺伝子のショウジョウバエホモログの単離と解析、(II) GAL4/UAS-WGA システムを用いた、ショウジョウバエの multi-synaptic な神経回路網の可視化技術の開発という 2 つのプロジェクトを行ったが、ここで得られた結果は申請者が目指す、神経回路網形成のメカニズムを解明するのに適当であり、評価に値する。特に、GAL4/UAS-WGA システムを用いた神経回路網の可視化技術は、今後の応用範囲が広く、神経生物学全体にとって大きな功績となると考えられる。これらのことから、申請者が博士 (医学) の学位授与に十二分に値するものと認める。