



Title	Mutations Modulating the Argos-Regulated Signaling Pathway in Drosophila Eye Development
Author(s)	田口, 明子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41772
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	た ぐち あき こ 田 口 明 子
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 2 2 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成12年 3 月 24 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	Mutations Modulating the Argos-Regulated Signaling Pathway in <i>Drosophila</i> Eye Development (ショウジョウバエ複眼の発生過程において Argos シグナル伝達経路 に關与する遺伝子の同定)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 岡野 栄之 (副査) 教 授 辻野 賀英 教 授 高井 義美

論 文 内 容 の 要 旨

【目的】

Ras/ERK カスケードは真核生物を通じて強く保存され、細胞の増殖・分化などを制御する基本的なシグナル伝達経路である。ショウジョウバエの複眼形成過程における細胞の分化と生存は、Ras/ERK カスケードを介したシグナル伝達に依存している。ショウジョウバエは分子遺伝学及び発生工学的手法を組み合わせることで遺伝子の機能を個体レベルで解析できる優れたモデル生物系である。

Argos は EGF モチーフを有する分泌性のタンパク質であり、EGF 受容体の活性化とその下流の Ras/ERK シグナルを負に制御することによって、細胞の分化を抑制し、細胞死を誘導する。Argos の過剰発現は、Ras/ERK シグナルを抑制し、カスパーゼを活性化して過剰な細胞死を誘導する。しかしながら、Argos による Ras/ERK シグナルの抑制とその結果引き起こされる細胞死誘導の分子機構は現在のところ不明である。そこで本研究では、これらの現象に關与する分子を同定し、そのメカニズムを明らかにすることを目的とした遺伝学的スクリーニングを行った。

【方法ならびに成績】

複眼特異的発現ベクター pGMR を用いて、Argos を複眼特異的に過剰発現させたトランスジェニックフライ (*GMR-argos*) を作製し、*GMR-argos* の表現型である粗複眼 (rough eye phenotype) に影響を与えるような変異体の遺伝学的スクリーニングを行った。

化学変異原性物質 EMS で処理した野生型系統の雄を *GMR-argos* の雌と交配し、生じた F1 約140,000個体の中から *GMR-argos* の表現型が増悪または抑圧された変異体をスクリーニングし、有意な効果を示すエンハンサー 3 系統及びサプレッサー10系統を分離した。そして、これらの変異体と劣性変異マーカー系統及びゲノムの約80%をカバーする多数の欠失変異体との交配により、変異をマッピングした。その結果、EGF 受容体シグナル伝達経路の構成因子である *Star*, *sprouty*, *bulge*, *clown* の新規アレル及び6つの新規な遺伝子の変異を同定した。同定した変異体の中で、複眼及び翅脈の発生及び分化に必要な EGF 受容体シグナル伝達に対する機能が未だ不明な *clown* について詳細な解析を行った。*clown* 変異体の複眼原基では、EGF 受容体の機能獲得型変異体及び Spitz (ショウジョウバエ TGF- α 相同分子) の過剰発現によって生じる表現型と類似した神経細胞及び色素細胞の分化の異常が観察された。また、*clown* は遺伝学的に *Ras1* より上流、*argos* より下流で機能していることが示唆された。さらに *clown* は翅脈の発生を負に制御していることが我々の実験から明らかになった。以上の結果から、*clown* 遺伝子産物は複眼のみな

らず、様々な組織の発生過程において Argos による EGF 受容体シグナル伝達系の抑制に重要な役割を果たしていることが示唆された。一方、6つの新規な遺伝子の変異についても、これらの変異体の遺伝学的解析を進めることによって、EGF 受容体シグナル伝達経路によって制御される細胞の分化・生存における役割を明らかにすることができるものと考えられる。

【総括】

ショウジョウバエ複眼の系を用いた遺伝学的スクリーニングは、Ras/ERK シグナル伝達系研究のための優れた手法として、多くの重要な構成因子の同定に貢献してきた。代表的なものとしては、Ras の恒常的活性型変異体 (*Ras1^{val}*) の過剰発現によって生じる粗複眼表現型を変化させる変異体の大規模な遺伝学的スクリーニングによって、*kinase suppressor of ras* (*KSR*) を含む *Ras1* より遺伝学的に下流の遺伝子群が多く同定された (KARIM et al., 1996, *Genetics* 143 : 315 – 329)。本研究で用いた Argos は細胞外から EGFR/Ras/ERK シグナルに対して抑制的に働き、その過剰発現によって生じる粗複眼表現型は、細胞死によって誘導されることから (SAWAMOTO et al., 1998, *Cell Death Differ.* 5 : 262–270)、*Ras1* より遺伝学的に上流で機能し、Argos による Ras/ERK シグナル伝達経路の抑制と細胞死誘導に関与する遺伝子が同定されることを期待した。結果として、*Ras1* より下流で働くと考えられる新規の遺伝子の変異体の他に、*Ras1* より上流で機能する新規の遺伝子を含む複数の変異体を同定した。特に、*clown* は遺伝学的に *Ras1* より上流、*argos* より下流で働き、Argos の機能に対して重要な役割をもつ遺伝子であることが本研究において明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

EGF 受容体を介するシグナル伝達経路は真核生物を通じて強く保存され、細胞の増殖・分化などを制御している。ショウジョウバエ複眼を用いた遺伝学的スクリーニングは、このシグナル伝達経路の研究のための優れた手法として、多くの重要な構成因子の同定に貢献してきた。申請者は、EGF 受容体シグナル伝達経路を介した細胞の分化と生存の制御に関与する新規遺伝子の同定を目的として、EGF 受容体のアンタゴニストである Argos を過剰発現したことによって生じる複眼の形態異常の表現型を変化させる変異体をスクリーニングした。分離された変異体のうち、一部は既知の EGF 受容体シグナル伝達経路の構成因子の変異体であり、残りは新規な遺伝子と判断された。遺伝学的解析によって Ras シグナル伝達経路における機能・複眼以外の組織の発生における機能・細胞死制御における機能に関して、各々の原因遺伝子を分類した。特に、*clown* 遺伝子は Ras の上流で EGF 受容体シグナルを負に制御する分子をコードするものと推定された。これらの遺伝子の機能解析は、EGF 受容体を介するシグナル伝達経路の機能と制御機構の解明に貢献することが期待できる。従って、本研究は博士（医学）の学位の授与に値するものであると評価された。