



Title	tincar encodes a novel transmembrane protein expressed in the Tinman-expressing cardioblasts of <i>Drosophila</i>
Author(s)	廣田, ゆき
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43950
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	ひろ た ゆ き 廣 田 ゆ き
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 1 7 5 7 3 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科情報伝達医学専攻
学位論文名	<i>tincar</i> encodes a novel transmembrane protein expressed in the Tinman-expressing cardioblasts of <i>Drosophila</i> . (<i>tincar</i> 遺伝子はショウジョウバエの Tinman 陽性心筋様細胞に発現する新規の膜貫通型蛋白質をコードする。)
論文審査委員	(主査) 教授 内山 安男 (副査) 教授 濱田 博司 教授 近藤 寿人

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

ショウジョウバエの循環器系である dorsal vessel の発生過程においては、ホメオボックス型転写因子である Tinman が重要な機能を果たすことが報告されている。dorsal vessel は脊椎動物の心臓および大動脈に相当する構造である。Tinman の脊椎動物相同分子である Nkx2.5 が哺乳類心臓発生に重要であることから、Tinman の機能は種を越えて保存されていると考えられている。Tinman は発生初期から臓性中胚葉に発現し、D-Mef2 (myocyte enhancer factor2)、Pannier (GATA zinc finger 転写因子)、 $\beta 3$ -tubulin などの発現を制御することが報告されている。発生後期のステージでは Tinman が dorsal vessel の特定の細胞に限局して発現することから、細胞サブタイプの決定に関与することが示唆されているがその機構に関しては不明な点が多い。本研究では、dorsal vessel の細胞サブタイプ分化の機構を明らかにすることを目的として、dorsal vessel において Tinman と一致した発現パターンを示す新規遺伝子を同定し、その発現制御を解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

Tinman は、dorsal vessel を構成する片体節あたり 6 個の心筋様前駆細胞 cardioblast のうち、4 個に限局して発現することが報告されている。in situ hybridization 法により複数の遺伝子について発現パターンを調べたところ、Tinman 同様の発現パターンを示す新規遺伝子 (*tincar*; Tinman-expressing cardioblast) を見いだした。*tincar* 遺伝子産物は、8 箇所の膜貫通部位と予測されるアミノ酸配列を持つ他は他の蛋白質との相同性を持たず、新規の膜貫通型蛋白質であった。*tincar* 遺伝子に HA タグを付けて S2 細胞に発現させたところ、細胞膜へ局在し、N 末、C 末ともに細胞内に存在すると推定された。*tincar* の発現を制御する因子の候補として COUP-TF 転写因子 Seven-up に着目した。Seven-up は *tinman* が発現しない 2 個の cardioblast において *tinman* を負に制御することが報告されている。*tincar* と *tinman*、*seven-up* の関係を明らかにするために、*seven-up*、*tinman* の機能欠失型変異体と異所的発現システムを用いてそれぞれの遺伝子の発現量を変化させ、in situ hybridization 法によって *tincar* の発現パターンに与える影響を調べ、以下の結果を得た。(1) *seven-up* の機能欠失型変異体では 6 個すべての cardioblast で *tincar* が発現

した。(2)*seven-up*を *mesoderm* 全体で異所的に発現させたところ、*tincar*の発現が消失した。(3)*tinman*の機能欠失型変異体では *tincar*の発現が消失した。(4)*tinman*を異所的に発現させたところ、*tincar*の発現が誘導された。これらの結果は、*tincar*は *tinman*同様に *seven-up*による抑制を受けること、また *tincar*は *tinman*の下流で正に制御されることを示唆している。

[総 括]

新規膜貫通型蛋白質である *Tincar* は *Tinman* の下流で心筋様前駆細胞特異的な発現を誘導されることが明らかとなり、*Tincar* の発現が心筋様前駆細胞の分化に働く可能性が示された。今後は *tincar* の機能欠失型変異体を作製することにより *Tincar* の dorsal vessel における機能を明らかにする予定である。

論文審査の結果の要旨

ショウジョウバエ心臓発生において、*tinman* は重要な役割を果たす遺伝子で、ホメオドメイン蛋白質をコードすると共に、複数の標的遺伝子に対して正の制御を行うことが報告されている。本論文では、ショウジョウバエ心臓発生において *Tinman* 陽性の心筋様前駆細胞に発現する新規の膜貫通型蛋白質を同定し、その発現様式と発現制御を解析した研究である。

心臓発生後期において、心筋様前駆細胞 (*cardioblast*) において *Tinman* と一致した発現様式を示す遺伝子 *tincar* を同定したので、その分子性状と発現制御を検討した。*tincar* 遺伝子産物は 992 個のアミノ酸より構成され、疎水性部分を 8 箇所含む。*tincar* をショウジョウバエ培養細胞に一過的に発現させて細胞内局在を調べたところ、*tincar* 遺伝子産物は N 末端、C 末端ともに細胞内に有する新規の膜貫通型蛋白質と推定された。*Tincar* は胚発生のステージ 15 から心臓予定領域のうち *Tinman* 陽性 *cardioblast* に特異的に発現する。*Tinman* の発現を負に制御することが知られる核内受容体型転写因子 *Seven-up* の機能欠失型変異体と、異所発現の解析を行った結果、*Tincar* は *Tinman* 同様に *seven-up* によって発現を負に制御されることが明らかになった。また、*tincar* と *tinman* の遺伝学的上下関係に関して検討したところ、*tinman* の機能欠失型変異体では *tincar* 発現量は顕著に低下し、逆に *tinman* を異所的に発現させると、*tincar* の発現も誘導された。これらの結果は *tinman* が *tincar* の発現を制御している可能性を示唆している。

本研究により、*Tinman* の下流標的遺伝子の候補として、新規の貫通型蛋白質である *Tincar* が同定された。この研究結果は、ショウジョウバエ心臓発生における細胞の分化機構を理解する上で重要な位置を占めることが示唆され、学位に値するものとする。