

氏 名 森 田 清 和

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大乙第71号

学位授与の日付 平成11年9月30日

学位授与の要件 学位規則第4条第2項該当

学 位 論 文 題 目 **The Role of a Member of the Transforming Growth Factor- $\beta$  Family, *cet-1*, and New Signal Mediators, CeBRAM-1A and CeBRAM-2B, in the Nematode *Caenorhabditis elegans***

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 野 田 昌 晴  
教 授 上 野 直 人  
教 授 山 森 哲 雄  
教 授 桂 勲 (国立遺伝学研究所)

He has identified a new member of the TGF- $\beta$  superfamily, CET-1, from *Caenorhabditis elegans*. *cet-1::GFP* fusion is expressed in the ventral nerve cord and other neurons. He isolated *cet-1* null mutant by Tc1 deletion method. *cet-1* null mutants have shortened bodies and male tail abnormal phenotype resembling *sma* mutants. These results suggest that *cet-1*, *sma-2*, *sma-3*, and *sma-4* share a common pathway. Overexpression experiments demonstrated that *cet-1* function requires wild type *sma* genes. Interestingly, CET-1 appears to affect body length in a dose dependent manner. Heterozygotes for *cet-1* displayed body lengths ranging between null mutant and wild type, and overexpression of CET-1 in wild type worms elongated body length close to *lon* mutants. Furthermore, his results show that *cet-1* controls body length not proportionally but in two particular regions of the worm probably by changing cell volume. Moreover, genetic interaction of the *cet-1* with mutants of the other TGF- $\beta$  pathway in *C. elegans*, *daf* demonstrated that *cet-1* is also involved at least partly in the *daf* signaling pathway. In male sensory ray patterning, lack of *cet-1* function results in ray fusions. Epistasis analysis revealed that *mab-21* lies downstream and is negatively regulated by the *cet-1/sma* pathway in the male tail. His results show that *cet-1* controls diversified biological processes during *C. elegans* development probably through different target genes.

He also has identified two genes, CeBRAM-1A and CeBRAM-2B, which are similar to human BRAM-1 previously identified as a BMP receptor associated molecule, in *C. elegans*. The *C. elegans* BRAMs (CeBRAM-1A and CeBRAM-2B) show significant amino acid identity with human BRAM-1, particularly in the C-terminal region. CeBRAM-1A was found to associate with DAF-1, the type I receptor in the *daf* pathway in *C. elegans* as well as a vertebrate BMP type I receptor BMPRIA. *CeBRAM-1A::GFP* fusion protein is expressed mainly in amphid neurons such as ASK, ASI, and ASG etc, where DAF-1 is expressed. Loss-of-function of CeBRAM-1A gene showed that the mutant worms looked normal except that they showed a behavior of head-lifting phenotype. Genetic interaction of CeBRAM-1A with previously known *daf-7* TGF- $\beta$  pathway mutants revealed that CeBRAM-1A negatively regulates the *daf-7* TGF- $\beta$  pathway and functions between *daf-1* type I receptor and *daf-14* SMAD. On the other hand, *CeBRAM-2B::GFP* fusion protein was expressed strongly in pharyngeal muscle and intestinal cells. This expression pattern of CeBRAM-2B is similar to that of *sma-6* type I receptor of the *cet-1/sma* pathway. Interestingly, double strand RNA interference (dsRNAi) of CeBRAM-2B showed Lon phenotype. These results strongly suggest that CeBRAM-1A and CeBRAM-2B may function as negative regulators of two distinct TGF- $\beta$  signal pathways, the *daf* pathway and the *sma* pathway respectively in *C. elegans*. Thus, he proposes that CeBRAM-1A and CeBRAM-2B define a novel class of molecules that serve as a negative regulator of TGF- $\beta$  pathways acting downstream

of the type I receptor.

## 論文の審査結果の要旨

TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属するリガンドは、さまざまな生理活性を有する細胞増殖因子群であり、初期発生、形態形成、器官形成においても重要な役割を担っていることが明らかとなっている。また、これらのシグナル伝達経路は、種をこえて保存されていることから広く生物にとって重要な機能として保存されてきたものと考えられる。

申請者は、生物の形態形成における基本的調節機構の分子メカニズムの解明に向けて、線虫の研究材料としての優秀性に着目し、本研究を行っている。本研究によって得られた主な成果は以下の通りである。

(1) 線虫 *C. elegans* より TGF- $\beta$  スーパーファミリーに属する新規リガンドである *cet-1* をクローニングし、主に神経細胞で発現していることを明らかにした。*cet-1* 遺伝子欠損変異株を単離し、同変異体が体長の短い *Sma* (*small*) の表現型を示すことを見出した。また、*cet-1* を過剰発現させた線虫は体が長い *Lon* (*long*) の表現型を示した。*cet-1* は用量依存的に線虫の体長を調節していると結論づけた。

(2) 線虫には *sma* 経路および *daf* 経路の2種類の TGF- $\beta$  ファミリーシグナル伝達経路が知られており、それぞれ DAF-1、SMA-6 の Ser/Thr キナーゼ受容体が type I 受容体としてシグナル伝達を担っている。申請者は、マウス BMP 受容体に結合する分子 BRAM-1 (BMP receptor associated molecule-1) の線虫相同分子として線虫より CeBRAM-1A および CeBRAM-2B を見出した。CeBRAM-1A および CeBRAM-2B の発現様式は、それぞれ、type I 受容体である DAF-1 および SMA-6 に酷似していた。さらに CeBRAM-1A 遺伝子欠損変異株を単離し、これを用いた遺伝学的解析の結果、CeBRAM-1A は、*daf* シグナル伝達経路の負の調節因子として機能することが解った。また、二重鎖 RNA を用いた機能欠損解析の結果、CeBRAM-2B は *sma* シグナル伝達経路の負の調節因子として機能することが判明した。これらの結果は、CeBRAM が TGF- $\beta$  スーパーファミリーの作用を制御する新しい調節因子であることを示すものである。

本研究は、線虫の系を利用して新しい TGF- $\beta$  ファミリー分子 *cet-1* の存在を明らかにするとともに、2種類のシグナル伝達経路をそれぞれ負に調節するシグナル伝達因子 CeBRAM-1A および 2B を同定したものであり、本研究分野に大きく貢献するものと判断し、合格の判定を下した。

学位論文として提出された研究結果について口頭発表させた後、審査委員が論文内容について試問した。さらに、申請者の関連研究分野の一般知識およびその背景となる基礎知識についても口頭試問により審査した。これらの試問に対する申請者の応答はいずれも的確であったことから、関連領域に十分な知識を有しているものと思われる。

また、提出された論文は英語で書かれており、英語の能力についても適正であると考えられた。さらに、論文の一部は国際誌である *Development* に発表されている。これらの結果をもとに審査委員会は申請者の学力は学位取得に値するものと判断した。