

氏 名 友 安 慶 典

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第538号

学位授与の日付 平成13年3月23日

学位授与の要件 生命科学研究科 分子生物機構論専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 PATTERN FORMATION OF DROSOPHILA DEVELOPING NOTUM

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 山森 哲雄
教授 上野 直人
教授 野田 昌晴
教授 林 茂生

Almost all animals develop from a single cell, fertilized egg, with multiple and progressive processes. In these processes, that we call DEVELOPMENT, fertilized egg is divided, proliferates, and differentiates into specific tissues or organs to form precise adult body. A major challenge in developmental biology is the elucidation of how a pattern is formed.

One general mode of pattern formation of the living things is based on the "Morphogen" and "Positional information", which is well known as French flag model. Another general mode of pattern formation is "Prepattern" proposed by Stern in 1968 based on his work of bristle patterning of *Drosophila*. The prepattern concept is based on that in order to make a pattern it is necessary to generate a spatial variation in something which resembles in some way the pattern. This mode of pattern formation is useful for explain a precise and complex pattern formation, for instance a bristle pattern of adult *Drosophila*.

On the dorsal part of the mesothorax (called notum) of *Drosophila*, large bristles (macrochaetes) develop in fixed numbers at constant positions. Pattern formation of macrochaetes on the notum has provided an ideal model system for studying two-dimensional patterning. The accurate positioning of the macrochaetes is established during the third larval to early pupal stage within the epithelial sheets of the notum region of the wing imaginal discs (thoracic disc). Initially, in the thoracic disc, a group of cells called a proneural cluster, characterized by the expression of the proneural genes *achaete* (*ac*) and *scute* (*sc*), are formed around the positions where macrochaetes will form. Namely, precise positioning of the macrochaete on the notum depends on the complex expression pattern of the *ac* and *sc* genes in the thoracic disc.

Hence, the factors that establish a prepattern on the notum must affect the expression of proneural genes. Recently, several genes which contribute to the establishment of prepattern (we call these genes "prepattern genes") on the notum were characterized. For instance, *pannier* (*pnr*) which encodes a GATA family transcription factor, *extramacrochaetae* (*emc*) which encodes a helix-loop-helix protein devoid of a basic domain, were identified as prepattern genes. These genes are expressed some specific regions of the thoracic disc, and seem to establish a prepattern on the notum field.

Local specific expression of prepattern genes could explain the pattern formation of macrochaetes on the notum. However, one of the problems of pre patterning on the notum (indeed this is a problem of prepattern concept itself) is how local maxima (or minima) of prepattern gene expression (or activation/ repression of the prepattern gene product) are generated. One possible explanation about this problem is that some morphogen gradients could contribute the regulation of prepattern genes expression on

the notum, suggesting that two general approaches of pattern formation are inseparable and parts of same developmental process.

One candidate factor that can contribute to the establishment of prepattern on the notum as a morphogen gradient is Decapentaplegic (Dpp). Dpp is a BMP family member protein that is thought to play essential roles in the development of various species. Dpp is thought to act as a morphogen, and provides the positional information to cells in the wing imaginal disc. This property suggests that Dpp could participate in the prepattern formation in the thoracic disc.

In this study, he has attempted to reveal how morphogen gradient contributes to the establishment of prepattern, using the notum region of *Drosophila* as a model system. In chapter 2, whether Dpp, as a morphogen gradient, plays a part in the pre patterning of the macrochaetes on the notum were examined. Experiments using both gain-of-function and conditional loss-of-function mutants for Dpp signaling revealed that Dpp participates in this process in two major ways. One is induction of the proneural cluster in cooperation with signaling of Wingless (Wg), which is a Wnt family member protein, and the other is restriction of the *wg* expression domain in the thoracic disc. Furthermore, the analysis using different copies of activated Dpp receptor expressing flies suggesting that a difference should exist between the threshold level of Dpp signaling required for proneural gene induction and that required for repression of *wg* expression. In chapter 3, first, the expressions of two prepattern genes, *pnr* and *u-shaped (ush)* on the loss-of and gain-of-function mutants for Dpp signaling were examined. These analyses revealed that both *pnr* and *ush* expression is positively regulated by Dpp signaling in a concentration dependent manner. Then, the mechanisms for the regulation of notal *wg* expression were analysed. Analysis of *wg* expression in wild-type and several allelic combinations of *pnr* mutants revealed that Pnr has two opposing roles, induction and repression, in the regulation of the *wg* expression, and that Ush switches the activator function to the repressor. It is also shown that notal *wg* expression is affected by Wg signaling itself. In the last chapter, the presented results and combined mechanism of pattern formation were summarised.

These findings suggest that the pattern formation based on morphogen is not an antithesis of prepattern, but rather these two modes of pattern formation are parts of same developmental process in the patterning of the *Drosophila* developing notum.

論文の審査結果の要旨

生物の体は、たった一つの受精卵が分裂、増殖、分化をくり返すことで成される。この精密に制御された発生過程のなかで、単純な細胞集団がいかんにしてパターン化されるのかを理解することは発生生物学の重要な課題の一つである。

パターン形成メカニズムには、「フランス国旗説」に代表される「モルフォゲン(形原)」や「位置情報」などの概念が導入され、その分子的な実体も徐々に明かされつつある。一方、ショウジョウバエの外部感覚器である剛毛の形成位置を決定するメカニズムとして「プレパターン」モデルが提唱されその実体の解析が進められてきた。このモデルでは、パターン形成に必要な要素があらかじめ(プレ)不均一に配置され(パターン)ているとするものである。ショウジョウバエの剛毛形成においては、これら要素の実体として Pannier, extramacrochaete を初めとするプレパターン遺伝子が複数同定されている。しかしながら、これらのプレパターン形成がいかんして行われるかは今だ不明な点が多い。

申請者はまず、この剛毛形成において、TGF- β ファミリーに属する細胞増殖因子 Decapentaplegic (Dpp)が、別の細胞増殖因子 Wingless (Wg)と協調による剛毛前駆細胞の形成促進、および wg 発現領域の規定、という二つの作用を持つことを明らかにした。またこれらの作用を引き起こすのに必要な Dpp シグナル活性が異なることを示し、Dpp が剛毛形成においてモルフォゲンとして機能していることを示した。その後、Dpp によるこれらの作用の一部は、プレパターン遺伝子である Pannier (Pnr), U-shaped (Ush)の誘導を介して行われていること、Dpp による wg 発現領域の規定にはこれらの因子の誘導が必要であることを示した。さらに、Pnr, Ush による wg 発現調節のメカニズムとして、Pnr は wg 発現を誘導すること、Pnr-Ush 複合体は抑制すること、Wg シグナル自身も wg 発現誘導に関与することを明らかにした。

学位申請者、友安慶典はこのパターン形成の重要な問題についてショウジョウバエ遺伝学を用いて検証し、少なくともショウジョウバエ剛毛形成における「プレパターン」形成には「モルフォゲン」として機能する液性因子 Dpp が必要であり、「モルフォゲン」「プレパターン」の2つのモデルは分離されるものではなく一連の発生過程の一部であるという結論を得た。本研究は発生生物学における重要なパターン形成メカニズムに重要な知見を与えるものであり、これらの結果はすでに国際誌に発表されている。また研究発表後の質疑においても申請者は的確に応答したことから、関連分野において十分な知識を有していると判断し、学位授与に相応しいと判断した。

先ず、提出された学位論文の内容に基づく口頭発表(30分程度)をしてもらい、然る後、審査委員による質議応答を1時間程度行った。応答は、論理的であり適格であった。また、既に、筆頭著者2報を含む数報の論文を国際誌に報告しており、更に、学位論文も適切な英語で書かれていた。以上のことから、本博士論文が学位授与の水準を十分に満たしていることを審査委員全員の一致で決定した。