

氏名	Abdel-Rahman Sayed Sultan Abdel-Salam
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第4975号
学位授与の日付	平成26年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科 バイオサイエンス専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	Analysis of control mechanism of the pupal development and eclosion timing by transcription factors FTZ-F1 and Blimp-1 in <i>Drosophila melanogaster</i> (キイロショウジョウバエの転写因子 FTZ-F1 と Blimp-1 による蛹発生および蛹化タイミングの制御機構の解析)
論文審査委員	教授 上田 均 教授 富岡 憲治 准教授 中越 英樹

### 学位論文内容の要旨

Living organisms sometimes determine their specific developmental events at precise timing. Furthermore, the timing of these developmental events is sometimes crucial to normal development. Ecdysone is an insect hormone that regulates the timing of many developmental events. FTZ-F1, a member of the nuclear hormone receptor type-transcription factor, is expressed by pulse exposure to ecdysone. Blimp-1, an ecdysone inducible transcriptional repressor, binds to the promoter region of the *ftz-fl* gene and plays an important role in determining the precise timing of *ftz-fl* expression during the prepupal period. It has been shown that FTZ-F1 plays important roles during embryogenesis, larval ecdysis, and early metamorphic stages in *Drosophila melanogaster*. However, little is known about the expression pattern, regulation, and function of this receptor during the pupal stage. So, I analyzed the expression pattern and regulation mechanism of *ftz-fl* during the pupal period, as well as the phenotypes of RNAi knockdown or mutant animals, to elucidate its function during this stage. Western blotting and immunohistological analysis revealed that  $\beta$ FTZ-F1 is expressed at a high level in most cells during the late pupal stage and this expression is dependent on the decline of ecdysteroid levels. Moreover, the expression of  $\beta$ FTZ-F1 declined just before eclosion and the decline timing in female is earlier than that in male, consistent with the difference of eclosion timing. Analysis of *ftz-fl* and *blimp-1* transcripts by RT-PCR revealed that *ftz-fl* mRNA level increases after disappearance of *blimp-1* transcript. This result suggests that *ftz-fl* is also regulated by Blimp-1 during the pupal stage. Next, I examined effects of *blimp-1* and *ftz-fl* knockdown and overexpression in whole body or in specific organs during the pupal period by using *GAL4/UAS* system or induction under control of heat shock promoter. The results revealed that *ftz-fl* is regulated by Blimp-1 during the pupal development and  $\beta$ FTZ-F1 controls the timing of pupal development, and moreover, the decline of  $\beta$ FTZ-F1 expression level controls eclosion timing. Both the *ftz-fl* genetic mutant and stage-specific *ftz-fl* knockdown using RNAi during the pupal stage showed defects in the eye, the antennal segment, the wing, and the leg, indicating that FTZ-F1 plays important roles in these organs. Interestingly, I found that the fat body is an important organ in which the  $\beta$ FTZ-F1 controls the timing of pupal development and eclosion.

## 論文審査結果の要旨

本研究は、ショウジョウバエの転写因子 FTZ-F1 と Blimp-1 の蛹発生期における発現パターンとこれらの因子の役割を明らかにすることにより、蛹期における発生のタイミングの制御機構を明らかにすることを目的として行った。

まず、ウェスタンブロットティングおよび免疫組織染色による解析により、FTZ-F1 が蛹中期後半から後期に時期特異的に体全体のほとんどの部位で発現し、羽化直前に消失することを明らかにした。そして、その発現は脱皮ホルモン 20-hydroxyecdysone によって抑制されるため、体内の ecdysteroid 濃度が低下した後に誘導されることを示した。また、高 ecdysteroid レベル時に発現する Blimp-1 が、蛹期においても ecdysteroid レベルが高い蛹の前期から中期前半にかけて発現することを RT-PCR 法で示した。次に、Blimp-1 の熱ショックプロモーター下での強制発現あるいは GAL4/UAS システムを用いてのノックダウンにより、FTZ-F1 の発現時期が変化することから、蛹期においても Blimp-1 が *ftz-fl* 遺伝子の転写抑制因子として作用することで、FTZ-F1 の発現のタイミングを決めていることを示した。さらに、GAL4/UAS システムあるいは熱ショックプロモーター下で FTZ-F1 あるいは Blimp-1 を体全体で強制発現あるいはノックダウンすることにより、FTZ-F1 は、蛹中後期以降における形態形成のタイミングの制御に関わることを明らかにした。また、羽化直前の FTZ-F1 の発現レベルの減少が羽化のタイミングを決めていることも明らかにした。一方、様々な GAL4 システムを用いた部位特異的な *ftz-fl* のノックダウンおよび *ftz-fl* 変異株等の解析により、蛹期において FTZ-F1 は多くの器官の形態形成に重要な役割を果たすことを示した。さらに、脂肪体での Blimp-1 と FTZ-F1 の発現は、蛹後期の発生タイミングおよび羽化のタイミングの決定に重要な役割を果たすことを示す結果を得た。このことから、脂肪体から何らかの液性因子が放出されて他の器官に作用することで、蛹中後期以降の発生タイミングおよび羽化のタイミングが決定される可能性を示すことができた。

本論文は解析がほとんど進んでいない生物の発生過程における時間制御機構の理解に大きく寄与するものであり、また、発表会での質疑に対する応答も充分であった。以上により、博士の学位に値すると判断された。