

別紙 4

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

主 論 文 の 要 旨

論文題目

ゼブラフィッシュ体軸形成における母性 *wnt* 遺伝子の機能解析

氏 名 日野 太夢

論 文 内 容 の 要 旨

脊椎動物において前後・左右・背腹軸といった体軸の形成は発生の根底に位置する現象である。体軸形成の分子機構はゼブラフィッシュを含む多くの脊椎動物モデルで研究されてきた。ゼブラフィッシュの背腹軸は受精後約 6 時間後の原腸胚初期に初めて形態的に認められるが、背腹軸形成機構はそれより早く受精直後から機能していると考えられている。これまでの研究から、ゼブラフィッシュ胚において受精直後に卵黄植物極で形成される微小管の予定背側方向への伸長、及び植物極に局在する背側決定因子が植物極微小管依存性に輸送されることが初期背側決定委に必須であることが示されてきた。しかしこの微小管形成および伸長方向の決定機構、背側決定因子の本態は明らかとなっていない。

本研究では植物極微小管の形成機構を解析するため、ゼブラフィッシュ初期胚において微小管を蛍光観察可能な実験系を確立し、植物極微小管形成の様子を詳細に観察した。その結果、微小管が予定背側方向に伸長し、分子輸送の足場となるのみならず、微小管自身も背側へと向かって移動すること、微小管の移動に伴い小胞構造が移動することが明らかとなった。このことは、微小管の移動と共役した細胞内小器官の移動により、背側決定因子が輸送されることを示唆した。

本研究では、背側決定因子についての解析も行われた。過去の研究から、この因子が将来背側となる領域に、古典的 Wnt シグナル経路を活性化し、 β -catenin の蓄積を引き起こすことで、背側特異的な遺伝子の発現を誘導することが明らかとされていた。また、この

背側決定因子の候補としてゼブラフィッシュで母性に発現する Wnt リガンドの一つ Wnt8a が報告され、その転写産物が卵母細胞中で植物極に局在していること、異所的な Wnt8a の発現が背側特異的な遺伝子の発現を誘導することが示された。これらの報告から、Wnt8a は背側決定因子の有力な候補として考えられてきた。しかし、*wnt8a* は接合体遺伝子としても発現し、腹側および尾部の構造の形成に重要な役割を果たしている。その機能欠損は重度の発生異常を引き起こし、変異ホモ胚は致死の表現型を示す。そのため、遺伝学的に母性 *wnt8a* を欠損した胚における背腹軸形成の解析はされておらず、母性 *wnt8a* の背腹軸形成における役割は解明されていなかった。本研究では、生殖細胞移植法により生殖細胞キメラを作製し、母性 *wnt8a* の機能を解析することに成功した。

従来の予想とは異なり、母性 *wnt8a* の欠損は背腹軸の形成に影響を示さず、背側決定因子の正体が *wnt8a* であることに疑問を生じさせる結果となった。さらに母性と接合体両方で *wnt8a* を欠損した母性・接合体複合変異体は、接合体のみで *wnt8a* を欠損した接合体変異体よりも、重篤な前方背側化表現型を示した。このことから、母性 *wnt8a* は接合体 *wnt8a* と協調して腹側、側方及び後部領域の形成に機能していることが示唆された。卵細胞における *wnt8a* の欠損は他の *wnt* 遺伝子の発現量の上昇を引き起こさず、背腹軸形成においては Wnt8a 以外の Wnt リガンドが機能していることが示唆された。ゼブラフィッシュにおける *wnt* 遺伝子の母性発現解析の結果、近年発見された *wnt6a* 転写産物が *wnt8a* と同様 1 細胞期胚植物極に局在し、異所的大量発現により背側特異的な遺伝子の発現を異所的に誘導することが明らかとされた。この結果から、Wnt6a が新たな背側決定因子の候補であることが示された。