

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 日野 太夢

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

### 論文審査担当者

主査 名古屋大学生物機能開発利用研究センター

教 授 博士(医学) 日比 正彦

委員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 薬学博士 黒岩 厚

委員 名古屋大学大学院理学研究科 教 授 理学博士 田中 実

## 論文審査の結果の要旨

脊椎動物において前後・左右・背腹軸といった体軸形成は、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各種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始めて形態学的に認められるが、背腹軸形成機構はそれより早く受精直後から始まっていると考えられている。これまでの研究から、受精直後にゼブラフィッシュ胚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、および植物極に局在する背側決定因子が微小管依存性に輸送されることが、初期背側決定に必須であることが示されてきた。しかし、植物極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ける微小管のライブイメージングの実験系を確立し詳細な観察が行われた。その結果、微小管は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、微小管自体も予定背側方向へ移動すること、微小管に伴う小胞構造の移動が観察された。このことから、移動する微小管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が示唆された。

本研究ではまた、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、*wnt8a* 転写産物が卵母細胞の植物極に局在していること、異所的な *Wnt8a* の発現により背側特異的な遺伝子の発現が誘導されることから、*Wnt8a* が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、その機能欠損は重度の発生異常を引き起こし、変異体は致死の表現型を示す。そのため、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 *wnt8a* 欠損生殖細胞を有するキメラ個体を作製し、母性 *wnt8a* の機能を解析することに成功している。従来予想とは異なり、母性 *wnt8a* の欠損は背腹軸の形成に影響を示さず、背側決定因子の本態が *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・接合体複合変異体では、接合体のみで *wnt8a* を欠損した接合体変異体よりも、より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。卵母細胞における *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* 遺伝子の母性発現を解析し、近年同定された *wnt6a* 転写産物が、*wnt8a* と同様に 1 細胞期胚の植物極に局在し、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を明らかとした。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。

本研究は背腹軸の形成に機能する植物極微小管形成を *in vivo* で解析し、ゼブラフィッシュ背腹軸形成における新たな背側決定因子輸送モデルを提唱した。背側決定因子についても、*Wnt8a* の母性機能欠損の影響を初めて遺伝学的に解析した結果、従来提唱されていた *Wnt8a* による背側誘導モデルに疑問を呈し、母性 *Wnt8a* の新たな機能を提唱した。さらに新たな背側決定因子の候補として、*Wnt6a* を見出した。これらの成果は、ゼブラフィッシュを含む脊椎動物の体軸形成機構の解明を大きく前進させたと評価される。よって、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。