

「生物の発生・分化・再生」  
平成13年度採択研究代表者

佐藤 矩行

(京都大学大学院理学研究科 教授)

### 「特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析」

#### 1. 研究実施の概要

〔研究のねらい〕 動物の体づくりは多くの発生遺伝子の働きによって成し遂げられるが、これまでに明らかにされている遺伝子に加えて、いまだ機能未知の新規の遺伝子が発生に重要な働きを果たしている可能性が極めて高い。脊索動物ホヤの受精卵はオタマジャクシ幼生へと発生する。この幼生は尾部に脊索その背側に中枢神経系をもち、脊椎動物ボデープランの最も単純な形を表している。最近になって我々がホヤ胚で発現する遺伝子を網羅的に調べてみると、約15,500と見積もられているホヤ発生遺伝子の半数以上はいわゆる新規の遺伝子であり、しかも、その多くが組織特異的に発現する。加えて、モルフォリノ・オリゴヌクレオチドによってホヤ発生遺伝子の機能を特異的かつ効率的に解析できる。そこで本研究では、ホヤの特異的・新規発生遺伝子の機能を網羅的に解析し、特に重要と思われるものについては両生類およびマウスでその機能を確かめる。

〔これまでの研究の概要と成果〕 初年度（H13年度）で得られたカタユウレイボヤの特異的・新規発生遺伝子の情報をもとに、本年度（H14年度）は(1)ホヤの特異的・新規発生遺伝子の同定と機能の解析、(2) cDNAチップの作製とそれを利用した特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析、(3)脊椎動物（ゼノパス・ゼブラフィッシュ）での相同遺伝子の機能の解析を進めた。(3)についてはまだ充分といえるデータが得られていないが、(1)と(2)については、順調に研究が推移した。(1)については200の遺伝子の機能をモルフォリノオリゴヌクレオチドによって阻害したところ、約40の遺伝子の機能を推測することができた。また、(2)についてはすでにチップを完成させ、特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析を進めている。

〔今後の見通し〕 5年間の研究を進めるにあたっての最初の2年間の研究としてはほぼ予定通りの研究結果が得られている。特に上の(1)で述べた予備的研究成果から、今後、モルフォリノを駆使した特異的・新規発生遺伝子の機能の網羅的解析は十分可能と思われる。

## 2. 研究実施内容

### (1) ホヤの特異的・新規発生遺伝子の同定と機能の解析（佐藤担当）：

カタユウレイボヤの発生過程で発現し、これまでに全長塩基配列の決定されたcDNAの中からまず200個を選定した。その中には64のzinc fingerモチーフをもつタンパク質をコードする遺伝子、38の神経で特異的に発現する遺伝子および98の脊椎動物で機能未知の相同遺伝子をもつホヤ遺伝子が含まれている。これらの遺伝子の機能を特異的モルフォリノで阻害したところ、20%にあたる40の遺伝子で形態異常が現れた。このことは、提案したプロジェクト研究が充分可能であることを示すものである。現在、この解析で得られた40の新規発生遺伝子の機能を、組織特異的分化マーカーを用いてさらに詳細に検討中である。また、約1,000の遺伝子の機能を確かめるために実験を進めている。

### (2) cDNAチップの作製とそれを利用した特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析（主として安住担当）：

カタユウレイボヤのcDNAプロジェクトで得られた情報をもとに、cDNAチップおよびオリゴヌクレオチドチップを作製し、マイクロアレイによる特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析をめざしている。これまでに、約13,400の転写産物に対するcDNAチップ（ver. 1）および約17,800の転写産物に対するオリゴヌクレオチドチップ（ver. 3）を完成させた。現在、約17,800の転写産物に対するcDNAチップ（ver. 2）を作製中である。ver. 1を使って受精卵および幼生で発現する遺伝子を解析したところ、このcDNAチップが高品質のものであることがわかった。現在ver. 1およびver. 2を使って特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析を進めている。

### (3) 脊椎動物（ゼノパス・ゼブラフィッシュ）での相同遺伝子の機能の解析（主として高橋担当）：

ホヤの発生で重要な働きをもつ特異的・新規発生遺伝子が得られた場合、その相同遺伝子cDNAをゼノパスまたはゼブラフィッシュから単離し、その機能を解析することが本研究の目的の一つでもある。本年度は脊椎動物胚の中軸中胚葉構造の形成に関わる遺伝子の機能を探る目的で、ホヤの脊索形成のキー遺伝子である*Ci-Bra*の標的遺伝子として単離された*prickle*遺伝子など約20の遺伝子につきモルフォリノを使って機能を阻害する実験を進めたところ、これらの遺伝子の機能がコンバージェンス、インターカレーション、エクステンションなどの形態形成運動のそれぞれに対応した機能を示すことがわかった。現在、これらの脊椎動物相同遺伝子の機能解析を進めている。

## 3. 研究実施体制

### 佐藤矩行グループ

① 佐藤矩行（京都大学大学院理学研究科・教授）

② 研究項目

(1) ホヤの特異的・新規発生遺伝子の同定とデータベースの構築

(2) モルフォリノを駆使した特異的・新規発生遺伝子の機能の解析

#### 安住薫グループ

① 安住薫（北海道大学大学院薬学研究科・助手）

② 研究項目

DNAチップの作製とそれを利用した特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析を行う

#### 高橋弘樹グループ

① 高橋弘樹（岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所・助手）

② 研究項目

(1) DNAチップの作製とそれを利用した特異的・新規発生遺伝子の機能カスケードの解析を行う

(2) ホヤでみつかった特異的・新規発生遺伝子の脊椎動物（ゼノパス・ゼブラフィッシュ）の相同遺伝子の機能の解析

#### 4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文発表

- 著者：Yutaka Satou, Lixy Yamada, Yasuaki Mochizuki, Naohito Takatori, Takeshi Kawashima, Akane Sasaki, Makoto Hamaguchi, Satoko Awazu, Kasumi Yagi, Yasunori Sasakura, Akie Nakayama, Hisayoshi Ishikawa, Kazuo Inaba, and Nori Satoh

タイトル：A cDNA Resource from the Basal Chordate *Ciona intestinalis*.

掲載誌：genesis, No.33, 153-154, 2002年8月15日発行

(2) 特許出願

4件