「生命システムの動作原理と基盤技術」
平成 18 年度採択研究代表者

濱田　博司

（大阪大学大学院生命機能研究科　教授）

「生物の極性が生じる機構」

1. 研究実施の概要

マウス胚において、左右と頭尾という２つの極性（非対称性）が生じる機構を調べるとともに、発生過程における体の極性の起源を明らかにする。極性を制御する分泌性蛋白質の分子を可視化し、これらの分子が胚の中で非対称に分布されるダイナミックスを調べる。得られた現象を再現できる数理モデルを構築し、極性を生み出している原理を予測し、それを実験的に検証する。以上より、多細胞生物において極性が生み出される原理を解明する。

2. 研究実施内容

18年度は、研究を進めるために必要な材料の準備や実験系の開発を行った。

①頭尾と左右の極性が生じる機構

①－ １．左右の対称性が破られる機構：哺乳類においては、ノードにおける左向きの水流が、発生の最も早い時期で見られる非対称性である。ノードの水流の働き方を知るため、Ca2+チャンネルと考えられる Pkd2 蛋白質に注目した。Pkd2 の働く場所、細胞内の局在を知るため、種々の遺伝子改変マウスを用意した。また、ノードの繊毛が後側へ傾く仕組みを知るため、平面内細胞極性（PCP:Planner cell polarity）を制御する分子 Dvl(Dvl1,Dvl2, Dvl3)に注目した。ノードにおける Dvl 蛋白質の機能・活性・細胞内局在の偏りを調べるために、Dvl:GF 融合蛋白質を発現するトランスジェニックマウスや Dvl 欠損マウス（単独変異及び多重変異）を得た。基底小体を蛍光で標識したマウスを入手し、基底小体の位置の変化を経時的に観察する系を作りつつある。

①－ ２．頭尾（前後）の極性の決定：体の頭尾の決定では、細胞移動が重要な役割を持つが、この細胞移動における Nodal シグナル、Wnt シグナル、BMP シグナルの役割を明らかにしつつある。

②極性の起源

②－ １．Lefty1 発現細胞の運命：胚盤胞で Lefty1 の発現を開始した細胞は、

将来どのような細胞へと寄与するのか？ この点を明らかにするため、Lefty1 陽性細胞を Venus で標識したトランスジェニックマウス、及び Lefty1 の制御領域で Cre を発現するトランスジェニックマウスを作製した。

②- ２．胚盤胞で発現する Lefty1 の役割・意義：Lefty1 が発現することで、細胞の運命が決定されるのか？　この点を明らかにするために、胚盤胞の単一細胞への遺伝子導入方法を開発した。

②- ３．Lefty1 発現誘導の機構：Lefty1 は胚盤胞の１－ ２個の細胞で発現が始まる（図６）。均一と思われる約２０個の細胞（epiblast）の中で、なぜ 1-２個の細胞だけが Lefty1 を発現するのか？この点を知るため、まず Lefty1 の転写制御機構を解析し、発現を 1-２個の細胞に限定するために必要な制御配列を探索した。これまでの結果より、この発現には Nodal 依存性のエンハンサーが必要であることが判っている。そこで、Maternal な Nodal mRNA が細胞分裂に伴い不均等に分配される可能性を検証したが、不均等分配は検出されなかった。

③シグナル分子のイメージング・数理モデルによる拡散ダイナミックスの解析

③- １．シグナル分子のイメージング：細胞外へ分泌された Nodal, Lefty 蛋白質を可視化するための観察方法を探索する。まずは、GFP との融合蛋白質を蛍光で、あるいは myc, flag-tag をつけたタンパク質を免疫染色で検出しようとしたが、成功しなかった。次に、signal/noise 比を改善するために改変型 Luciferase(Gaussia luciferase)との融合タンパク質にして、EMCCD カメラなどを用いて検出を試みている。

③- ２．数理モデルの構築と解析：

中胚葉の形成・パターニング、胚盤胞における *Lefty1* の発現誘導パターンを再現できるモデルの構築を開始した。

3. 研究実施体制

(1)「濱田」グループ

①研究分担グループ長:濱田　博司(大阪大学大学院　教授)

②研究項目

・生物の極性が生じる機構（実験生物学による検証）

(2)「望月」グループ

①研究分担グループ長:望月　敦史(基礎生物学研究所　助教授)

②研究項目

・生物の極性が生じる機構（理論生物学による検証）

4. 研究成果の発表等

(1)論文発表(原著論文)

○Nakamura, T., Mine , N., Nakaguchi, E., Mochizuki, A., Yamamoto, M., Yashiro, K., Meno, C., Hamada, H. (2006). Generation of robust left-right asymmetry in the mouse embryo requires a self enhancement lateral inhibition system. ***Dev Cell***. 11:495-504.

○Takeuchi, J.K., Lickert, H., Bisgrove, B., Yamamoto, M., Chawengsaksophak, K., Hamada, H., Yost, J., Rossant, J., and Bruneau (2007). Integration of Notch signaling at the node by Baf60c initiates the left-right asymmetry cascade. ***Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*** 104:846-851.