

# 近藤誘導分化プロジェクトの研究成果

## 目次

1. メダカを用いた胚発生にかかわる突然変異体の大規模作製と解析・・・ 2
2. 突然変異体を用いた脳の領域化の研究・・・・・・・・・・・・・・・・ 3
3. メダカの発生の基礎研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 4
4. ゼブラフィッシュの新しいタイプの突然変異体の単離と解析・・・・ 5
5. シグナル分子 Wnt による新たな分化制御機構の発見・・・・・・・・ 6
6. 組織再生の基礎機構の研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7

## 1. メダカを用いた胚発生にかかわる突然変異体の大規模作製と解析

### 研究成果の概要

脊椎動物の胚発生の基本機構を解明するために、世界で初めてメダカ突然変異体の網羅的な大規模作製と選別を行った。形態的な変化を伴うもののほか、生殖細胞の移動や神経走行にかかわる突然変異体も得た。胚発生にかかわる 300 の突然変異体の中には脳領域の形成にかかわるものが豊富で、ゼブラフィッシュの突然変異体では見られなかったものも多く、研究対象としての貴重なコレクションが得られた。(図1)

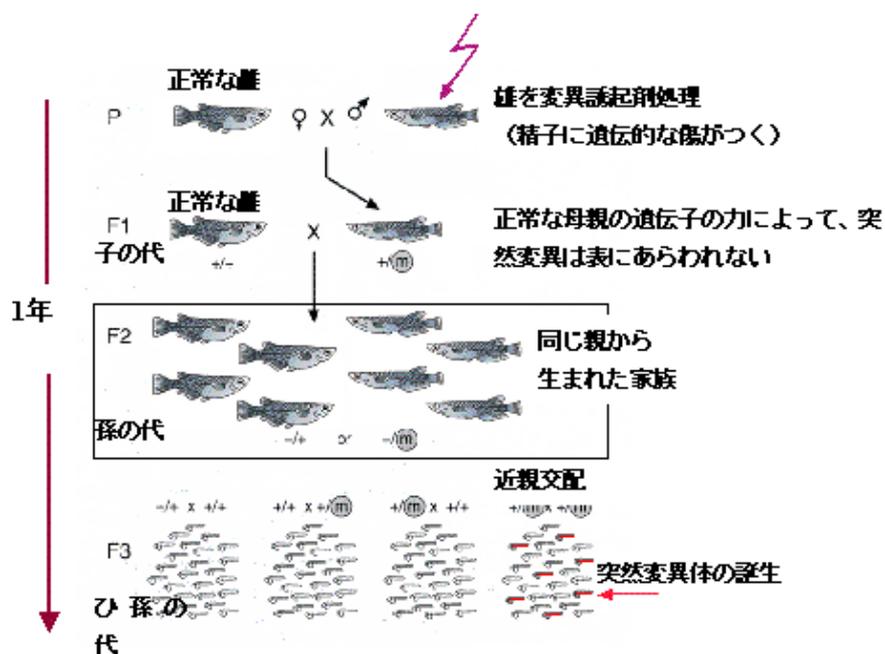


図1 メダカ突然変異体の作製

### 将来への展望・応用の可能性

すぐれた実験動物であるメダカの特性を生かして、多くの有用な突然変異体を得られた。今後、世界規模で実施されるメダカを用いた諸研究に対して、大きな基盤を与えた。

### 特許出願

なし

### 報告書他

- 1) Shima A, Himmelbauer H, Mitani H, Furutani-Seiki M, Wittbrodt J, Scharl M. (2003) Fish genomes flying. EMBO reports 4, 121-125.
- 2) 近藤寿人, 桃井章裕, 清木 誠 (2003) 疾患動物モデル：小型魚類 BIOclinica 18, 649-654.

## 2. 突然変異体を用いた脳の領域化の研究

### 研究成果の概要

メダカの突然変異体を駆使して脳の領域化の機構を研究した。突然変異体群を相補性によって帰属する遺伝子に分類し、また表現型を脳の特異的な領域の成立にかかわるもの、領域間の境界の確立にかかわるものなどに分類して、脳の領域化についてのモデルを構築するとともに、主要な突然変異体の遺伝子座の確定と対応遺伝子のクローニングを実施した。ゼブラフィッシュの研究と対応付けるために、ゼブラフィッシュ脳の領域化の基礎研究を実施した。

### 将来への展望・応用の可能性

多段階の過程を経て成立する脳の領域化機構の解明に重要な、新しいタイプの突然変異体を多数得て、当該分野の研究が一挙に加速されるであろう。

### 特許出願

なし

### 報告書他

- 1) Momoi A, Yoda H, Steinbeisser H, Fagotto F, Kondoh H, Kudo A, Driever W, Furutani-Seiki M. (2003) Analysis of Wnt8 for neural posteriorizing factor by identifying Frizzled 8c and Frizzled 9 as functional receptors for Wnt8. *Mech. Dev.* 120, 477-489.
- 2) Yoda H, Momoi A, Esguerra CV, Meyer D, Driever W, Kondoh H, Furutani-Seiki M. (2003) An expression pattern screen for genes involved in the induction of the posterior nervous system of zebrafish. *Differentiation.* 71, 152-162.

### 3. メダカの発生の基礎研究

#### 研究成果の概要

突然変異体を駆使した研究に基盤を与えるために（図2）、EST 発現のデータベース（MEPD）を作製した。メダカ胚の個別の細胞を生体蛍光標識し、それらの細胞の胚発生にともなった変遷を連続追跡し、細胞群としての領域化過程を解明した。またメダカの脳神経核と神経束の走行・投射について詳細を明らかにした。

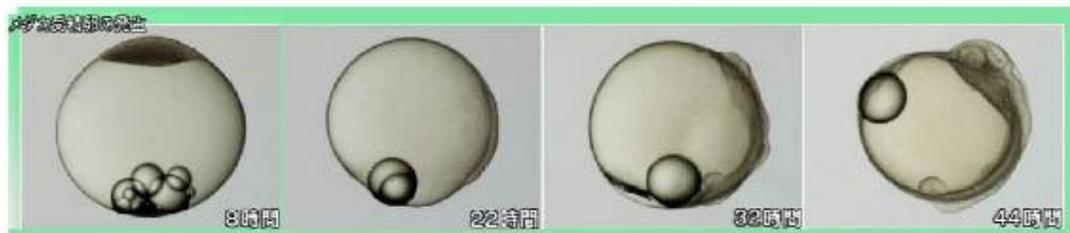


図2 メダカの発生の基礎研究

#### 将来への展望・応用の可能性

日本で育まれたすぐれた実験動物であるメダカは、突然変異体の駆使にとどまらずさまざまな活用の道がある。本研究は、メダカの現代的な研究の発展を基礎づけた。

#### 特許出願

なし

#### 報告書他

- 1) Henrich T, Ramialison M, Quiring R, Wittbrodt B, Furutani-Seiki M, Wittbrodt J, Kondoh H. (2003) MEPD: a Medaka gene expression pattern database. *Nucleic Acids Res.* 31, 72-74.
- 2) Hirose Y, Varga ZM, Kondoh H, Furutani-Seiki M. (2004) Single cell lineage and regionalization of cell populations during Medaka neurulation. Submitted.)

#### 4. ゼブラフィッシュの新しいタイプの突然変異体の単離と解析

##### 研究成果の概要

ゼブラフィッシュでは、母性効果突然変異体、尾芽の形成に関する突然変異体などの新しい突然変異体を単離し、初期卵割の調節(図3)や体幹部の形成について新しい情報を得た。メダカとゼブラフィッシュの突然変異体は総じて、その種類においても生物学的特性においても相補う。これら2種の小型魚の突然変異体から脊椎動物の発生の全体像が得られるであろう。

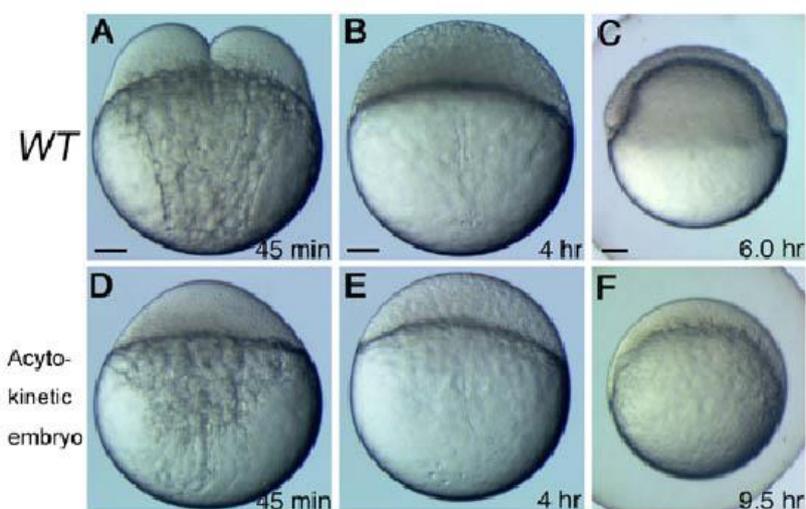


図3 ゼブラフィッシュの母性突然変異体に見られる卵割の欠損(下)

##### 将来への展望・応用の可能性

メダカとゼブラフィッシュの2種の小型魚から得られる突然変異体は相補って、脊椎動物のゲノム機能や発生機構の全容の解明に大きな貢献をすることが期待される。本研究では、母性効果について新たな遺伝学的なメスを入れた。

##### 特許出願

なし

##### 報告書他

- 1) Kishimoto Y, Koshida S, Furutani-Seiki M, Konodh H (2003) Zebrafish maternal-effect mutations causing cytokinesis defect without affecting mitosis or equatorial vasa deposition. Mech. Dev. in press.

## 5. シグナル分子 Wnt による新たな分化制御機構の発見

### 研究成果の概要

脳の発生に深くかかわる Wnt シグナル分子について生合成から分化制御機構に至までの一貫した研究を実施した。Wnt 蛋白質は分泌前に脂質修飾を受けて活性をもつこと、神経系の増殖因子であると見なされてきた Wnt 蛋白質が、前脳の神経幹細胞に対してはニューロン分化促進因子として作用し、感覚系では分化ニューロンのタイプを直接的に制御すること（図4）など、通説を覆す大きな発見をした。

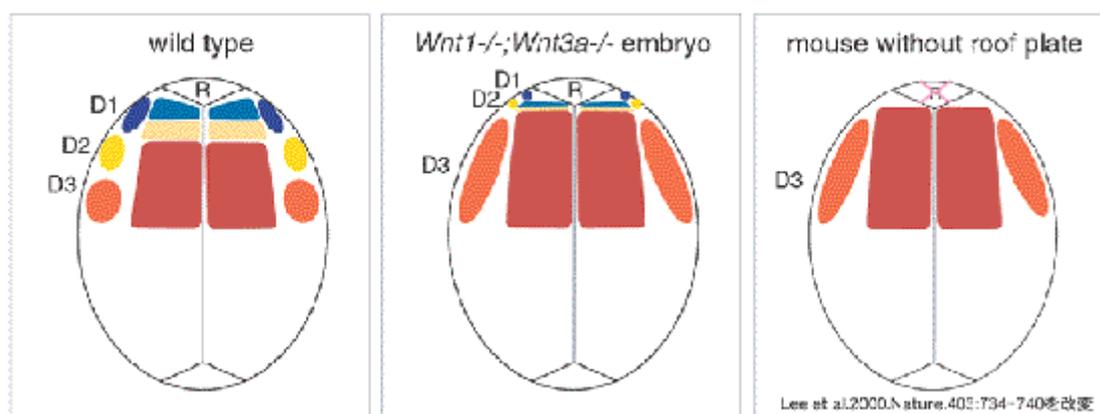


図4 Wnt 突然変異体脊髄における感覚系神経ニューロンのタイプの変化。

### 将来への展望・応用の可能性

胚発生の制御に多彩な機能を発揮する Wnt シグナル分子の作用の各ステップの研究によって、胚発生の基礎原理の理解、また、人為的な分化操作に不可欠の重要な情報を得た。

### 特許出願

- 1) 高田慎治、高田律子. 抗 Wnt-3a モノクローナル抗体. 特願 2000-368336

### 報告書他

- 1) Muroyama Y, Fujihara M, Ikeya M, Kondoh H, Takada S. (2002) Wnt signaling plays an essential role in neuronal specification of the dorsal spinal cord. *Genes Dev.* 16:548-553.
- 2) Muroyama, Y., Kondoh H, Takada S (2003) Wnt proteins promote neuronal differentiation in neural stem cell culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.

## 6. 組織再生の基礎機構の研究

### 研究成果の概要

イモリをはじめとする両生類で顕著な水晶体再生を例として、また新たに開発したトランスジェニックイモリ・アフリカツメガエル幼生を駆使して（図5）、発生過程と再生過程における遺伝子作動を比較した。再生開始機構以外では、同一の制御機構が働いていることを明らかにした。また水晶体再生の開始に FGF ファミリー因子が関与することを示した。

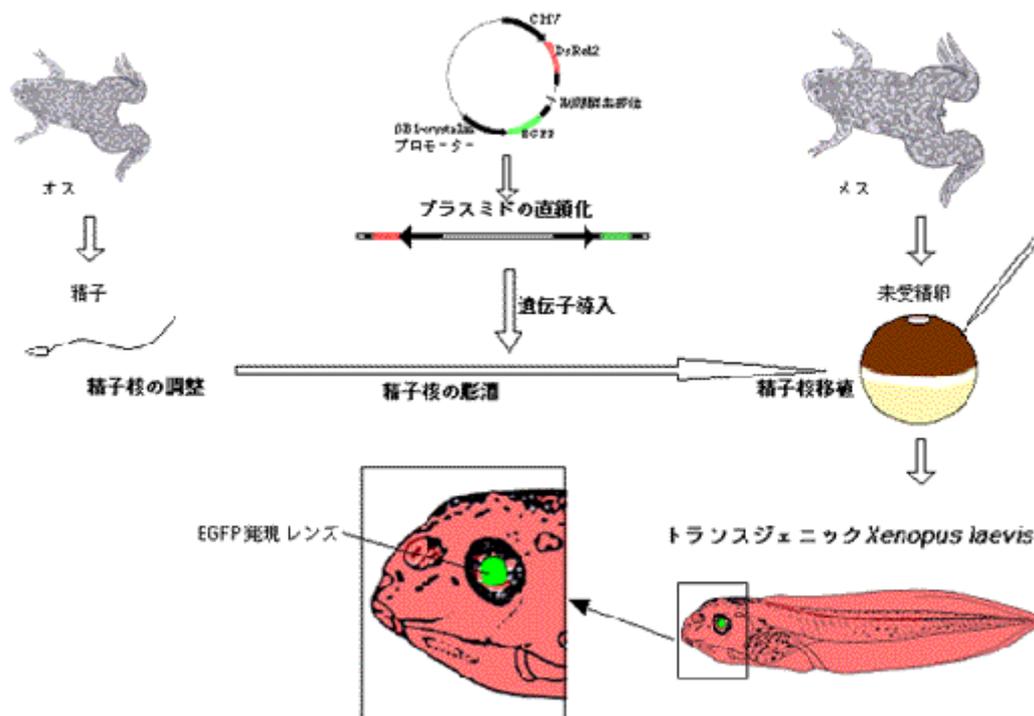


図5 トランスジェニック *Xenopus laevis* 幼生の再生研究への応用。

### 将来への展望・応用の可能性

分化遷移現象や組織再生現象の基礎機構を現代的な研究方法を駆使して解明し、今後の再生科学に重要な新しい視点を与えた。

特許出願 なし

### 報告書他

- 1) Kondoh H, Uchikawa M, Yoda H, Takeda H, Furutani-Seiki M, Karlstrom RO. (2000) Zebrafish mutations in Gli-mediated hedgehog signaling lead to lens transdifferentiation from the adenohypophysis anlage. *Mech Dev.* 96,165-174.
- 2) Mizuno N, Agata K, Sawada K, Mochii M, Eguchi G. (2002) Expression of crystallin genes in embryonic and regenerating newt lenses. *Dev Growth Differ.* 44, 251-256.