

アコヤガイ *Pinctada fucata* 初期発生における Wnt シグナルの役割

三木 智博 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 和田 洋 (筑波大学 生命環境系)

## 背景・目的

アコヤガイ *Pinctada fucata* のような二枚貝の祖先はかつて単板綱のような一枚の殻を持つ軟体動物であったと言われている。このような一枚の殻のみの二枚貝の祖先が、どのようにして二枚の殻を持つようになったのか。この疑問を解決する手がかりを得るために、軟体動物において機能を解明されていない遺伝子に着目した。中でも *wnt* 遺伝子は軟体動物における機能に対する知見が無く、不明である。*Wnt* 遺伝子は様々な動物の初期発生において重要な役割を持っている。例えば、*wnt* はショウジョウバエにおいて広く研究されており、この遺伝子が破壊されると翅がない表現型を持ったショウジョウバエが生まれる。*Wnt* には様々な種類があるが、そのうちの *wntA*, *wnt4* が二枚貝であるアコヤガイの初期発生のうちの殻形成に近い時期に発現することが分かっている。つまり、*wntA,4* が二枚貝の殻形成に関わっている可能性がある。

そこで、本研究では *wntA,4* が二枚貝の殻形成に関わっていることを調べるために、アコヤガイ *Pinctada fucata* の初期発生胚を用いて *wntA,4* の発現パターンを解析する。

## 材料・方法

## 1. 実験材料

・アコヤガイ *Pinctada fucata* 初期発生胚 (受精後 3, 4, 5, 8, 10, 14, 15, 22, 24 時間)

・*wntA, 4* のプライマー

## 2. 実験方法

・*in-situ* ハイブリダイゼーション

メタノールにつけていたアコヤガイ *Pinctada fucata* の初期発生胚 (受精後 3, 4, 5, 8, 10, 14, 15, 22, 24 時間) を PBT で洗い、20 分間 ProK で処理した後一晩 4% パラホルムアルデヒドで処理した。その後 PBT で洗浄し、ハイブリダイゼーションバッファーとともに *wntA, 4* のプローブを反応させ一晩置いた。その後 SSC を含む溶液でサンプルを洗浄し、抗体を反応させ、サンプルの発色を行なった。*in-situ* ハイブリダイゼーションは 4 回行なった。

## 結果・考察

1. *wntA* の発現パターン

アコヤガイの初期発生胚における *wntA* の発現パターンを以下の図に示す。

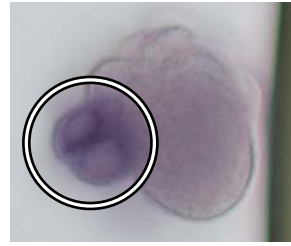


図 1. 16 細胞期の *Pinctada fucata* における *wntA* の発現の様子

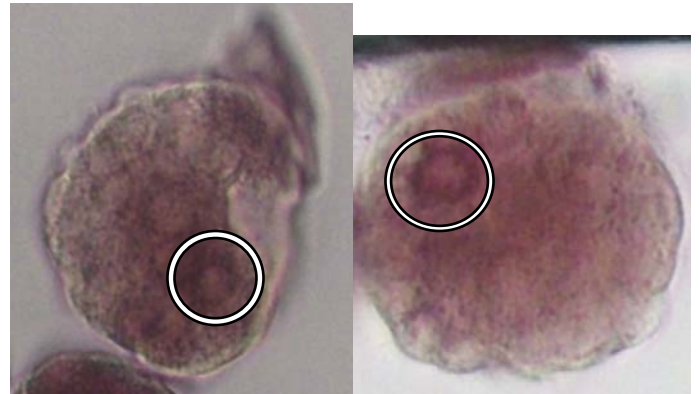


図 2 (左), 3 (右) . *Pinctada fucata* のトロコフォア幼生における *wntA* の発現の様子 (写真の上が頭部)

図 1 より、16 細胞期には A 割球由来の一細胞において発現している。図 2 より、陥入した貝殻腺の後方内部に発現しているのが分かる。図 3 より、原口の陥入の外側に発現しているのが分かる。以上のことより、*wntA* は A 割球の系統において発現し、貝殻腺と原口の形成に関して何らかの関係があると考えることができる。

2. *wnt4* の発現パターン

アコヤガイ *Pinctada fucata* における *wnt4* の発現パターンは発表会にて紹介する。