

冠輪動物で獲得された転写因子 TALE2 のらせん卵割型発生における役割

館岡 美紅 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 守野 孔明 (筑波大学 生命環境系)

【導入】

らせん卵割動物 Spiralia は、後口動物や脱皮動物とともに左右相称動物を構成する分類群の1つであり、軟体動物や扁形動物、環形動物などが含まれる。形態的に多様である一方で、その初期発生の様式は系統内でよく保存されており、らせん卵割型発生と呼ばれる。らせん卵割型発生でよく保存されている特徴の1つに、動物-植物極軸に沿った割球群 (カルテット) ごとの細胞運命の分配が知られている (図 1 参照)。近年、この細胞運命の分配には、らせん卵割動物で獲得された転写因子群がそれぞれ特定のカルテットで発現することが重要だと示唆された¹。しかし、それらの転写因子が特定のカルテットで発現するための分子メカニズムはまだ明らかになっていない。これについて、母性的に発現する転写因子が、転写因子の特定のカルテットでの発現を制御していると仮説を立てた。

候補となる転写因子を探るうえで、母性的に発現し、発現レベルが卵割初期には高く幼生期には低いことを条件とした。その条件に当てはまった転写因子のうち、本研究では特に狭義の冠輪動物でのみ確認されている TALE 型転写因子 TALE2 に注目した。

本研究の目的は、転写因子の特定のカルテットでの発現を実現するメカニズムを解明するために、TALE2 のらせん卵割型発生における役割を調べることである。そのために、TALE2 の空間的発現パターンの解析と機能阻害実験を行った。

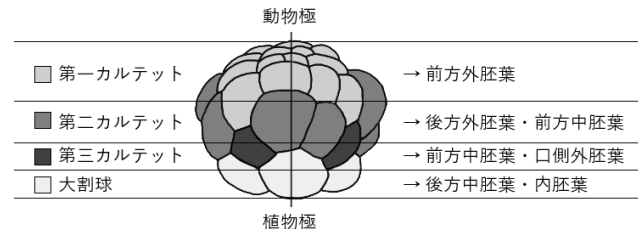


図1 らせん卵割型発生における各カルテットとその予定運命の模式図

【材料・方法】

軟体動物クサイロアオガイ *Nipponacmea fuscoviridis* を茨城県平磯海岸で採集し、人工授精で得られた未受精卵から 32 細胞期の胚を固定した。固定胚を用いて TALE2 の *in situ* hybridization を行い、時空間的発現パターンを調べた。

また TALE2 の機能を阻害するため、TALE2 の翻訳開始部位に対するモルフォリノアンチセンスオリゴをクサイロアオガイの卵にインジェクションした。インジェクションした卵を発生させ得られた胚を固定し、TALE2 の機能阻害による発生への影響を調べた。影響の有無の確認方法として、卵割期に特定のカルテットでの発現を示す転写因子の *in situ* hybridization を行った。

【結果】

in situ hybridization の結果、TALE2 は母性的に発現して 4 細胞期までは全割球で遍在することが観察された。8~16 細胞期には大割球の植物極側でより強く発現が確認された。32 細胞期

には第一カルテットの娘細胞である $1q^{21}$ と $1q^{22}$ でのみ発現し、 $1q^{21}$ と $1q^{22}$ の隣接部分に局在するようになった。

モルフォリノオリゴをインジェクションして TALE2 の機能を阻害したところ、特定のカルテットで発現する転写因子の空間的発現パターンが変化した。正常な 16 細胞期の胚では $1q^1$ 、 $1q^2$ で発現する転写因子 FoxQ2-like1、FoxJ1-like1 の発現が、TALE2 機能阻害胚では消失した。2q で発現する SPIL-B は $1q^1$ へと発現がシフトした。2Q で発現する PRD5-like は 2Q に加え $1q^2$ でも発現が見られた。

また、正常な 32 細胞期の胚では $1q^{12}$ 、 $1q^{21}$ 、 $1q^{22}$ 、 $2q^1$ で発現する転写因子 Otx は、TALE2 機能阻害胚では $1q^{11}$ と $1q^{12}$ へ発現がシフト・縮小した。3Q で発現する GATA4/5/6 は、3Q に加え $1q^{22}$ と $2q^2$ でも発現が見られた。以上のことから、TALE2 阻害により図 2 の模式図で示すような細胞運命の変化が起きたと推測される。

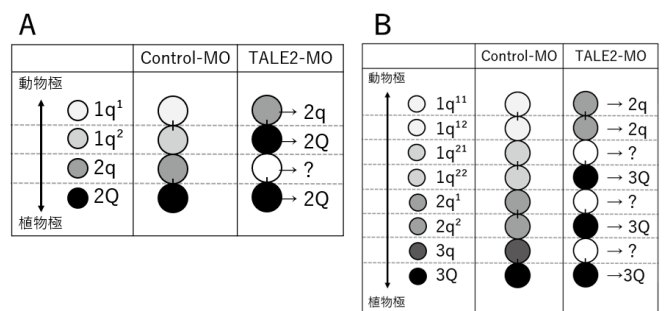


図2 TALE2 阻害による転写因子の発現パターンの変化 (A が 16 細胞期、B が 32 細胞期)

【考察・展望】

正常胚では最も植物極側に位置する割球 (大割球; $2Q \cdot 3Q$) でのみ発現する転写因子群が、TALE2 機能阻害胚では $1q^2$ や $1q^{22} \cdot 2q^2$ でも発現するようになったことから、TALE2 の機能の 1 つとして、大割球で発現する転写因子の大割球以外の細胞での発現の抑制が推測される。

しかし、TALE2 がどの伝達経路や因子に作用することで転写因子の特定のカルテットでの発現を実現するのかはまだ不明である。発現制御メカニズムの解明に向けて、TALE2 と他の経路・因子の関係性を調べるうえで、Wnt/ β カテニン経路を候補の 1 つに考えている。Wnt/ β カテニン経路は植物極側の細胞運命の決定にはたらくことが知られており、最も植物極側に位置する割球のみで発現する転写因子群の発現領域が TALE2 機能阻害により拡大したことを説明するための手掛かりになると期待される。

【引用文献】

- Morino et al. (2017) Nat. Ecol. Evol. 1, 1942–1949.