

巻貝類を用いたらせん卵割型発生を制御する遺伝子群の探索

査澤 紗奈 (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・脱皮動物と共に左右相称動物を構成する大分類群で、軟体動物・環形動物・扁形動物などが含まれる。非常に多様な形態が見られる一方、多くのらせん卵割動物の初期発生には「らせん卵割型発生」という発生様式が共通している。らせん卵割型発生の特徴は、割球群が螺旋状に配置される点と、細胞運命が発生初期に動物極-植物極軸に沿って割球群ごとに分配される点である。その際、同時に出来た4つの割球群はまとめてカルテット(quartet)と呼ばれる。各カルテットは分割された卵割期ごとに細胞運命が定められており、例に第一カルテットは将来、前方外胚葉を形成する(図1)。また32細胞期に生じる割球の3Dもしくはその娘細胞4dは、らせん卵割型発生で背腹軸決定のオーガナイザーとして働くという特徴が保存されている⁽¹⁾。

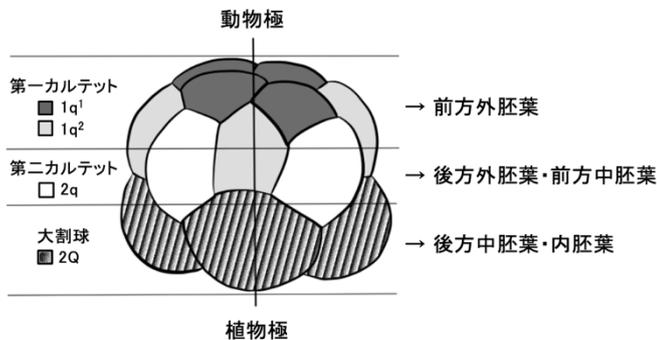


図1: らせん卵割型発生の16細胞期における各割球群の名称と予定運命

これらの特徴は1900年代から知られていたが⁽²⁾、らせん卵割型発生の初期卵割期に発現する候補遺伝子の数は多く、またそれらの機能解析は容易ではないため、らせん卵割型発生を制御する分子メカニズムや進化の経緯については今も不明な点が多い。従って、らせん卵割型発生の制御に働く遺伝子を発見するためには、多数の候補遺伝子からどうやって効率よくターゲットを絞り込むかが重要なポイントとなる。本研究では、当研究室の先行研究の軟体動物クサイロアオガイ *Nipponacmea fuscoviridis* の16細胞期における割球群ごとのトランスクリプトームデータ、および環形動物ヤッコカンザシ *Spirobranchus kraussii* の初期胚のトランスクリプトームデータを利用することで、特定の割球に偏って発現し、かつ動物門を超えて共通の発現パターンを示す遺伝子を効率的にスクリーニングし、らせん卵割型発生を制御する遺伝子の発見を目指す。

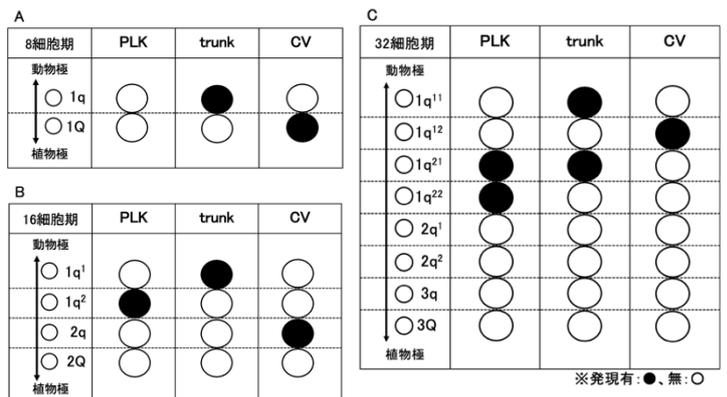
【材料・方法】

当研究室の先行研究からトランスクリプトームデータを用いて発現レベルを検証し、(1)クサイロアオガイの16細胞期で特定の割球に偏って発現する、(2)ヤッコカンザシの初期発生期でも発現している遺伝子を探索した。二種間での遺伝子のオーソロジーは、双方向のBLAST検索で確認した。以上の条件より選定された遺伝子について、クサイロアオガイとヤッコカンザシで *in situ* hybridization を行い、時空間的発現パターンを調べた。

【結果】

先行研究のトランスクリプトームデータでは、クサイロアオガイの16細胞期において、動物極-植物極軸に沿って割球特異的に偏った発現をする遺伝子が140個同定されていた。

双方向のBLAST検索の結果、クサイロアオガイで同定された140個の遺伝子のうち、ヤッコカンザシの初期胚で発現しオーソロジーが確認出来た遺伝子は14個あった。そして14の遺伝子から、既に他の研究で調査済みであった5つの遺伝子とトランスクリプトームデータで発現レベルの低い遺伝子を除き、それら以外の遺伝子について *in situ* hybridization を行った。結果、3つの遺伝子 PLK (Polo like kinase), trunk, CV (Crossveinless) は、クサイロアオガイの8, 16, 32細胞期の胚で特定のカルテットに特異的な発現がそれぞれ観察された(表A,B,C)。また、これら3つの遺伝子についてヤッコカンザシでも *in situ* hybridization を行った結果、少なくともPLKはヤッコカンザシの16, 32細胞期の胚でもクサイロアオガイと同じ発現パターンが得られた。



【考察・展望】

同定された遺伝子の1つであるPLKは、中心小体を複製し細胞分裂を制御する働きがヒトで知られる⁽³⁾。またtrunkとCVは、背腹軸への関連性とBMPシグナルへの関連性がショウジョウバエで示唆されている⁽⁴⁾⁽⁵⁾。今後はこれらの遺伝子について、モルフォリノオリゴのマイクロインジェクションによる機能阻害実験を計画している。機能阻害による卵割パターン、割球運命の変化や、体軸の攪乱がないかを調べる予定である。

【引用文献】

- (1) J. Lambert et al. (2008) Mol Dev Evol. 310B:15-23
- (2) D. Costerro et al. (1976) Amer Zool. 16:277-291
- (3) S. Yamamoto et al. (2019) Nat. 10:1810
- (4) A. Smita et al. (2017) Dev. 144:677-686
- (5) A. James et al. (2011) Cell. 145, May13