

## ドーパミン関連遺伝子の発現領域の可視化によるヌタウナギ脳の領域同定

清水 宗民（筑波大学 生物学類） 指導教員：鈴木 大地（筑波大学 生命環境系）

### 【背景・目的】

脊椎動物において、大脳基底核は多様な行動を司る脳領域である。大脳基底核に機能不全が起こると、パーキンソン病やハンチントン舞踏症など、重大な運動障害が発症することが知られている。このような疾病の治療法確立には、大脳基底核の構造および機能に対する詳細な理解が必要である。そのために、大脳基底核の進化的変化の追跡は、祖先的系統から派生的系統がどのように現存の構造や機能を獲得したかを調べられる点で有効なアプローチの一つであると考えられる。

脊椎動物の系統で最も初期に分岐した円口類は、ヤツメウナギとヌタウナギからなる。研究が進んでいるヤツメウナギとは異なり、ヌタウナギ脳内の大脳基底核の存在は確かめられていない。これは、大脳基底核の起源を明らかにするうえで大きな情報不足といえる。そこで、まず大脳基底核を構成する各脳領域に特異的に発現する遺伝子のホモログがヌタウナギのゲノムに存在しているかを確かめる必要がある。そのうえで、それらの遺伝子の脳内発現パターンを調べ、ヌタウナギにおいて大脳基底核を構成する各脳領域の有無および他種の脳領域との対応関係を検討することで、進化初期の大脳基底核の状態が推定できる。本研究では、とくに黒質緻密部のドーパミンニューロンに発現する *TH* と、線条体においてドーパミンを受容するニューロンに発現する *D1* および *D2* に着目した。

### 【方法】

#### ① 系統解析

ヌタウナギ (*Eptatretus burgeri*) は、すでにゲノム情報が公開されている。そこでBLASTPを用いて、ヌタウナギのゲノムの中からこれらタンパク質のアミノ酸配列に似た配列を探索した。また他種の遺伝子は、すでに報告されている配列情報をデータベースから取得した。オンラインアライメントソフトウェアのMAFFT.ver7、オフライントリミングソフトウェアのtrimal.ver1.2.rev59を用いてこれらの配列を整理し、さらに手動のトリミングを加えた。最後にオンライン系統解析ソフトウェアであるIQ-treeを用いて系統樹を作成した。

#### ② 発現解析

相模湾で採集されたヌタウナギ (*E. burgeri*) の成体を人工海水中で解剖し、取り出した脳を4%PFA/PBSで固定した。そして約20 μmの厚さで凍結切片を作成した。①で発見した相同遺伝子のプローブを各々作成し、*in situ hybridization* 法によってヌタウナギの脳内での発現領域を可視化した。

### 【結果・考察】

#### ① 系統解析

ゲノム検索の結果、*D1* 系統の遺伝子は2種類、*D2/4* 系統が1種類、*TH* は1種類が見つかった。系統解析によって、*D2/4* 系統の遺伝子については、系統解析によって *D4* 系に属することがわ

かった(図1)。つまりヌタウナギには *D2* 系の配列が存在しない可能性がある。より厳密に *D2* 系配列の有無を確かめるためには、他の脊椎動物において *D2* 遺伝子の近傍にある遺伝子を対象としたシグネチャー解析などが必要だと考えられる。

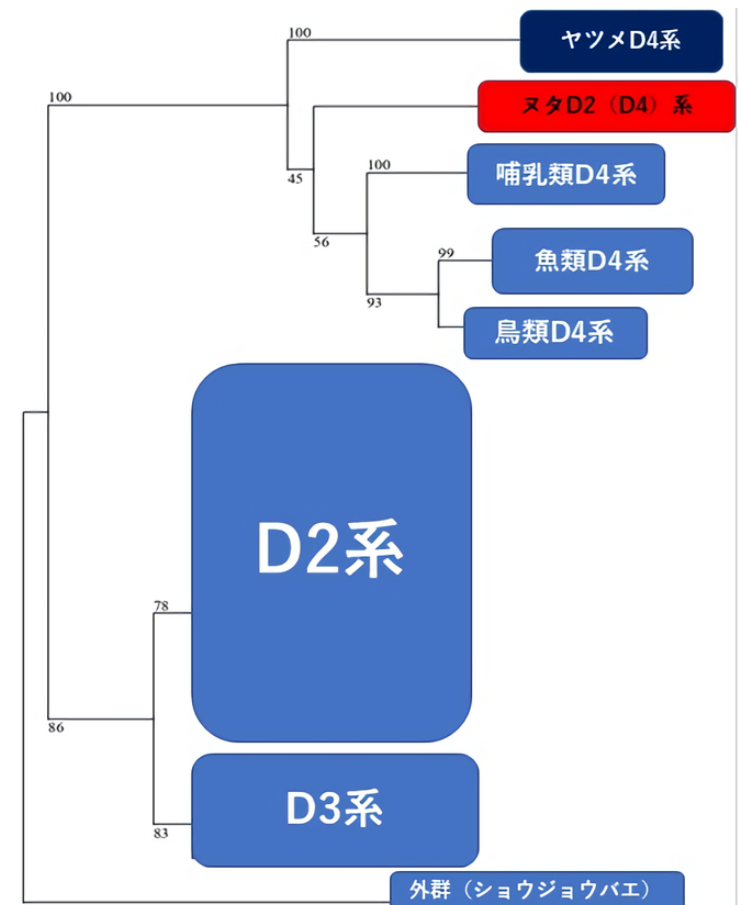


図1 D2/4の分子系統樹

#### ② 発現解析

実験結果の詳細は発表会で提示する。