

局在 mRNA と誘導的細胞間相互作用によるホヤ胚発生の制御

Control of embryogenesis of ascidians by localized mRNAs and embryonic induction

西田 宏記 (NISHIDA HIROKI)

大阪大学・大学院理学研究科・教授



研究の概要

ホヤは近年、発生過程の詳細な記述、ゲノムプロジェクトの完了などにより、発生生物学における新たなモデル動物として注目を集めている。本研究ではホヤの初期発生を司るしくみの理解をさらに進めるため、卵内で局在している mRNA について詳細かつ網羅的な解析を行った。また、32 細胞期から始まる誘導的細胞間相互作用について、シグナルに対する応答能を制御する因子、そして誘導によって引き起こされる非対称細胞分裂の制御メカニズムを解析した。

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：胚発生、脊索動物、ホヤ、母性 mRNA、局在 RNA、胚誘導、胚軸、脊索

1. 研究開始当初の背景

ホヤの胚発生は古くから研究されているが、近年、発生過程の詳細な記述、初期発生のしくみの理解度の高さ、ゲノムプロジェクトの完了などにより、発生生物学における新たなモデル動物として注目を集めて始めていた。

2. 研究の目的

下等脊索動物であるマボヤ(*Halocynthia roretzi*)の受精卵は、オタマジャクシ幼生へと発生する。卵は細胞分裂によって表皮、神経系、脊索、筋肉、間充織、内胚葉などの限られた種類の細胞タイプを作り出すが、その過程で細胞の発生運命がどのようなしくみで決定されるのかを解明することを目的とする。本研究ではマボヤの初期発生を司るしくみの理解を押し進めるため、1. 受精卵細胞質内で局在している母性の因子、特に卵内で局在している母性 mRNA について詳細かつ網羅的な解析を行う、2. 受精後 32 細胞期あたりからスタートする誘導的細胞間相互作用について、シグナルに対する応答能を制御する因子、そして誘導によって引き起こされる非対称細胞分裂の制御メカニズムを解析することを目的とした。

3. 研究の方法

前述の目的を達成するために、既存の cDNA プロジェクトやゲノムプロジェクトの

データを活用し、顕微胚操作（細胞質移植、割球単離、再結合）と分子生物学（遺伝子強制発現、ノックダウン、制御領域解析、抗体作成）、細胞生物学的技術（イメージング、タイムラプスビデオ）を使い解析を行った。

4. 研究の主な成果

この研究を通じてあげてきた成果には、以下のようなものがある。

(1) 母性の局在因子、特に卵内で局在している mRNA の解析

卵後極に局在している 9 種の *postplasmic* RNAs の機能解析をひととおり完了した。さらにその中で *POPK-1*, *PEM*, *Wnt5* に関して詳細な解析を行い、以下のようなことがわかった。卵後極に局在している *POPK-1* mRNA とその蛋白が卵割期の *Centrosome-attracting body* の適切な形成に関わると共に、母性 mRNA がそこに濃縮されるのに関わっていた。

もうひとつの *postplasmic* RNAs である *PEM* mRNA とその蛋白が、その局在位置に向かって中心体を引き寄せることにより卵割期に起こる不等卵割を制御していることがわかった。また、*PEM* mRNA とその蛋白はホヤにおける生殖細胞系譜での転写抑制に関わっていることが判明した。*PEM* は卵割面の制御と生殖細胞系譜での転写抑制

のデュアルファンクションを果たしており、PEMのドメイン解析の結果これらの2つの機能はタンパク質の別々の部位によって担われていることがわかりつつある。

さらに、*Wnt5* mRNAとその蛋白は、中胚葉と内胚葉の運命分離に関わっている。その際、*Not* mRNAが中胚葉側の娘細胞に非対称に分配される。16細胞期の内中胚葉の核内で*Not* mRNAの転写が起こり、核が将来の中胚葉側に移動していき、核膜崩壊と共にmRNAが細胞質に放出され、mRNAをそこに置き去りにして、分裂装置が細胞中央に戻るというmRNAの非対称分配の新しいしくみを発見した。

(2) 誘導的細胞間相互作用における応答能の制御と非対称細胞分裂の制御

脊索誘導における細胞内応答能因子は、ザイゴティックに発現してくる*Zic*と*FoxA*であることが判明した。次に、脊索誘導における脊索特異的キー遺伝子である*Brachyury* 遺伝子の発現制御領域に*Ets*, *Zic*, そしておそらく*FoxA*の結合配列があり、細胞外からの誘導情報と応答能因子の情報は、*Brachyury* 遺伝子の発現制御領域上で統合されることがわかった。脳誘導と間充織誘導における応答能因子は、それぞれ*GATA*と*macho-1*であることが示知られているので、これで、3種の誘導における応答能を制御している因子が全て明らかとなった。このように、ホヤ胚における初期胚誘導の全体像を包括的に理解することが可能となったことは、特筆に値する。全ての因子は、転写因子であったことが興味深い。

間充織誘導においては、内胚葉からのFGFが作用する方向が間充織/筋肉細胞の非対称分裂の方向性を決定するのに重要であることを実験的に明らかにした。脊索/神経索前駆細胞の非対称細胞分裂のしくみはやや複雑で、FGF誘導シグナルと動物半球から来るアンタゴニスティックなシグナルによる細胞極性化によって引き起こされることが明らかになった。脊索誘導における応答能の時間的消失についても解析したところ、それは抑制型の転写因子である*FoxB*の遺伝子発現によってもたらされることがわかった。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究により、局在母性因子と胚誘導による細胞の発生運命決定機構の詳細が明らかとなったことにより、ホヤのモデル動物としての価値を高めるのみならず、発生における一般原理を解明し、さらに脊椎動物に至る進化の過程の理解にも一石を投じることがで

きた。この研究により、ホヤの初期発生のしくみは、他のモデル動物と比べても引けをとらないくらいに理解が進んだといっても過言ではないといえる。また、日本がホヤの研究をリードし続けるためにも重要な研究となった。

6. 主な発表論文

Kumano, G., and Nishida, H. Patterning of an ascidian embryo along the anterior-posterior axis through spatial regulation of competence and induction ability by maternally localized PEM. **Dev. Biol.** (2009) 331, 78-88.

Lemaire, P., Smith, W. C., and Nishida, H. Ascidiaceans and the plasticity of the chordate developmental program. **Curr. Biol.** (2008) 18, R620-R631.

Prodon, F., Sardet, C., and Nishida, H. Cortical and cytoplasmic flows driven by actin microfilaments polarize the cortical ER-mRNA domain along the a-v axis in ascidian oocytes. **Dev. Biol.** (2008) 313, 682-699.

Negishi, T., Takada, T., Kawai, N., and Nishida, H. Localized PEM mRNA and protein are involved in cleavage plane orientation and unequal cell divisions in ascidians. **Curr. Biol.** (2007) 17, 1014-1025.

Matsumoto, J., Kumano, G., and Nishida, H. Direct activation by *Ets* and *Zic* is required for initial expression of the *Brachyury* gene in the ascidian notochord. **Dev. Biol.** (2007) 306, 870-882.

Kim, G. J., Kumano, G., and Nishida, H. Cell fate polarization in ascidian mesenchyme/muscle precursors by directed FGF signaling and role for an additional ectodermal FGF antagonizing signal in notochord/nerve cord precursors. **Development** (2007) 134, 1509-1518.

Kumano, G., Yamaguchi, S., and Nishida, H. Overlapping expression of *FoxA* and *Zic* confers responsiveness to FGF signaling to specify notochord in ascidian embryos. **Dev. Biol.** (2006) 300, 770-784.

Nakamura, Y., Makabe, K. W., and Nishida, H. POPK-1/Sad-1 kinase is required for the proper translocation of maternal mRNAs and putative germ plasm at the posterior pole of the ascidian embryo. **Development** (2005) 132, 4731-4742.

ホームページ等：

http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/bio_web/lab_page/nishida/index.html