

科学研究費補助金（学術創成研究費）公表用資料  
〔事後評価用〕

平成16年度採択分

平成22年3月31日現在

研究課題名（和文）**生体パターン形成原理の実験的ならびに**

**数理解析的解明**

研究課題名（英文）Experimental and mathematical analyses of

biological pattern formation

研究代表者

**近藤滋** (KONDO SHIGERU)

大阪大学大学院生命機能研究科・教授



研究の概要：ゼブラフィッシュの皮膚模様形成機構に関して、以下の結果を得た。

- 1) 色素細胞間の相互作用のネットワークを明らかにした。
- 2) 上のネットワークを組み込んだ計算機シミュレーションが、模様形成の過程を正確に再現した。
- 3) 模様変異突然変異2種の遺伝子クローニングした。
- 4) クローニングされた遺伝子は、Kチャンネルとギャップジャンクションであった。
- 5) クローニングされた遺伝子、または改変した遺伝子を導入することで、模様がさまざまに変化することを発見した。
- 6) 5の事実から、模様形成のためのシグナル伝達には、イオンや低分子が重要な役割を果たしていることが明らかになった。

以上により、ゼブラフィッシュの皮膚模様形成に関して、多くの事実が発見され、模様形成原理の解明に大きく近づくことができた。

研究分野：基礎生物学

科研費の分科・細目：形態・構造

キーワード：ゼブラフィッシュ、反応拡散、チューリング、パターン形成、色素細胞

1. 研究開始当初の背景

イギリスの数学者チューリングが提唱した反応拡散波原理と呼ばれる数理モデルが存在し、それによれば形態形成に必要な位置情報が「波」として自然に発生すると、数理理論が存在しているが、発生が学者の間では分子レベルの証拠がないのでほぼ無視されている状態であった。近藤は、ゼブラフィッシュを使い、模様が反応拡散波であることの状態証拠を積み重ねてきたが、ゼブラフィッシュの模様形成を研究している研究者の間でも、実験的な証拠の少なさから、一つの仮説として扱われていた。

2. 研究の目的

本プロジェクトでは、ゼブラフィッシュの縞模様形成がどのような仕組みで行われているかを細胞レベル、分子レベルで明らかにすることを目的にする。

3. 研究の方法

研究は、(1) 皮膚の中での色素細胞動態を測定する研究、(2) 模様変異を起こす突然変異のクローニングと遺伝子の作用の解析、(3) 新しい模様変異遺伝子をスクリーニング、の3つの方向から進められた。また、それぞれのデータを常に計算機シミュレーションにフィードバックすることで、細胞ベースの詳細なシミュレーションにより、模様形成を再現することを目的とした。

4. 研究の主な成果

(1) 色素細胞の動態解明

レーザーを使って一部の細胞を消去すると、それに誘導されて、模様が移動することから、ゼブラフィッシュの模様が、基本的に反応拡散波であることが強く示唆された。次に、細胞集団の周辺にある細胞を消去したときに、消去する細胞の数、位置によって再生してくる細胞の種類数が変化することを利用して、2種

類の色素細胞間の相互作用のネットワークを解明した。

## (2) 色素細胞の接触と移動

インビボの状況において、色素細胞間の移動傾向を測定した結果、細胞は常に近傍の細胞から離れる傾向があることが明らかになった。この事実は従来の予測に反していた。

## (3) シミュレーションによる模様の再現

(1)、(2)の細胞動態を組み込んだ、細胞レベルのシミュレーションを行うと、正常個体や突然変異個体のすべての模様を再現することができた。抽象的な数値計算でなく、実際の測定結果を細胞に組み込んでパターン形成を再現できたのはこれが初めてであり、我々の考えが正しいことが証明されたと考えている。

## (4) 遺伝子のクローニング

分子レベルでの解明を行うため、模様が斑点になる変異体(レオパード)と縞の幅が広がる変異体(ジャガー)の遺伝子を、ポジ所なるクローニングにより同定したところそれぞれ、*Kir7.1*と*Cx418*をコードしていた。

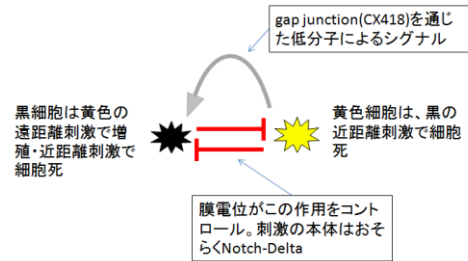
## (5) 遺伝子導入による模様のレスキュー

クローニングされた遺伝子を、エンドのプロモーターで発現させたところ、模様変異をレスキューした。したがってこれらの遺伝子が原因遺伝子であることが証明された。

## (6) 改変遺伝子による模様の操作

遺伝子を任意のプロモーターの制御の下で導入したり、改変したものを導入することで、これらの分子の働きがある程度明らかになった。たとえば*Kir7.1*は黒色素細胞の実に発現させることで模様のレスキューを行うので、この遺伝子が黒色素細胞でのみ働いていることがわかる。また、*Kir*の内向き清流性をなくすと、模様が大きめの斑点に変化することが見つかった。*Cx418*を黒色素細胞で発現させると、縞の幅が減り、本数が2倍になった。これらのことは、2つのチャンネル活性が模様形成を行うシグナルそのものに非常に近いところにあることを強く示唆する。

以上のデータから



このような分子ネットワークが明らかになりつつある。分子レベルでの Turing 波解明は目前に迫った。

## 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

本研究は、理論と実験の両方を十分に使いこなすことにより進められた、世界的にも非常に珍しい研究である。研究代表者の近藤により、魚の縞模様がチューリングパターンであるという事実が認められるまでは、Turing の理論自体ほとんど知られてさえいなかった。しかし、その後の研究成果を発表し続けることで、世界的にも動物の形態形成の基本的なメカニズムとして認められるようになってきている。すでに、多くの形態形成現象において Turing 波の存在を証明する実験が進められているが、本研究はそれらの指導的な立場にある。

## 6. 主な発表論文

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

Nakamasu A, Takahashi G, Kanbe A, Kondo S. Interactions between zebrafish pigment cells responsible for the generation of Turing g patterns, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 8429-8434 (2009)

Kondo S, Iwashita M, Yamaguchi M, How animals get their skin patterns: fish pigment pattern as a live Turing wave, *International Journal of Developmental Biology*, 53, 851-856 (2009)

Yamaguchi M, Yoshimoto E, Kondo S. Pattern regulation in the stripe of zebrafish suggests an underlying dynamic and autonomous mechanism, *PNAS*, Vol.104 no.12,4790-4793 (2007)

Watanabe M, Hiraide K, and Okada N, Functional diversification of kir7.1 in cichlids accelerated by gene duplication, *GENE*,399, 46-52 (2007)

<http://www.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/skondo/>