

発生運命決定機構プロジェクト

Mechanisms of Developmental Fate Determination

（研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96L00404）

プロジェクトリーダー

西田 宏記 東京工業大学生命理工学部・助教授

コアメンバー

真壁 和裕 京都大学大学院理学研究科・助手

西方 敬人 甲南大学理工学部・助教授

西駕 秀俊 東京都立大学理学部・助教授



1. 研究目的

本プロジェクトの目的は、初期発生過程において、各々の割球がどの組織を作る細胞になるのか（すなわち、発生運命の決定機構）を解明することがであった。我々はモデル動物として原索動物であるホヤを取り上げ（図1）、その胚発生の単純さを利用し発生運命決定機構を実験発生学的及び分子生物学的に解明してきた。



図1 ホヤの卵と発生35時間後のオタマジャクシ幼生

2.2 筋肉決定因子の同定

100年以來その存在が予測されていた筋肉決定因子の遺伝子を同定し、*macho-1* と名づけた（図3）。*macho-1* は筋肉形成部位の卵細胞質に局在する母性 mRNA をコードしており、筋肉で働く様々な遺伝子のスイッチをオンにするための転写因子を作り出すことがわかった。

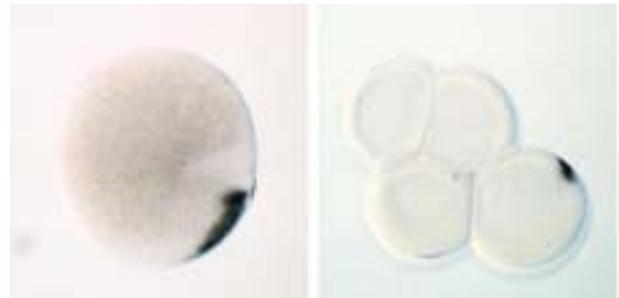


図3 筋肉決定因子 *macho-1* mRNA の卵と8細胞期胚における局在

2. 研究成果概要

2.1 母性 mRNA の cDNA プロジェクト

まず、母性 mRNA を用いた cDNA プロジェクトを実行し、データベースとして公開した(MAGEST database:

<http://www.genome.ad.jp/magest/>) (図2)。すなわち、卵に存在するほぼ全メッセージに対応する数のクローン(3万2千クローン、約8千種類)について、ESTを作成するとともに、約3000クローンについてその局在/発現パターンを記載し、データベースを構築し、公開した。



図2 MAGEST データベースのトップページ

2.3 RNA 局在化のしくみ

cDNA プロジェクトからわかったように、ホヤでは卵細胞や胚の中で多種類の RNA が局在しているので、いかにしてこれらの RNA が局在化されるのかをさぐった。後極に局在を示す母性 mRNA の 3' UTR を解析し、局在のために必要な核酸配列を同定した。また、その局在を引き起こすのに働く RNA 結合蛋白質の候補をいくつかクローニングした。

2.4 卵割パターンの制御

また、卵内で局在している因子を各割球に正確に分配していくためには、卵割パターンの制御が重要であると考えられる。ホヤ胚の後極では不等細胞分裂が繰り返されるが、それを引き起こす特殊な細胞内構造として CAB (Centrosome-attracting Body) を同定した(図4)。

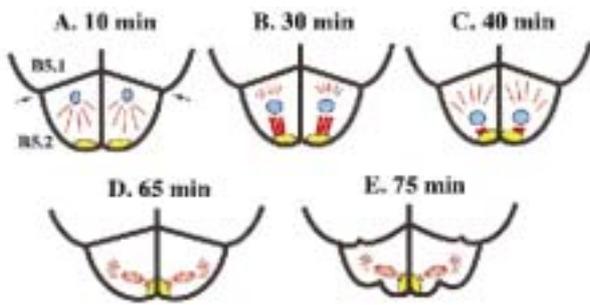


図4 不等細胞分裂が起こるしくみ

2.5 脊索誘導と間充織誘導

ホヤ胚では、胚誘導が非常に早い時期に少数の細胞間で起こる。32細胞期に起こる脊索誘導と間充織誘導を解析することにより、Directed Signaling and Asymmetric Division モデル(図5)を提唱し、少数の細胞で構成されるタイプの胚発生における細胞間相互作用のあり方に関して、理解の進展をもたらした。

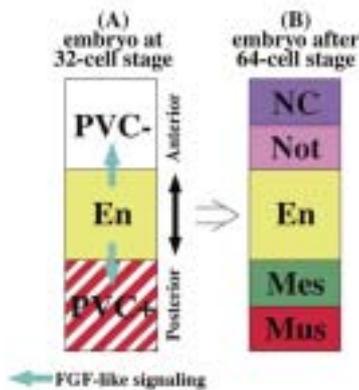


図5 Directed Signaling and Asymmetric Division モデルの概念図

3. 結論

これらの成果は、胚発生のあり方の解明に進展をもたらし、我々を含む脊椎動物の発生の理解にも大きく貢献できると考えられる。

主な発表論文

- (1) Nishida, H., and Sawada, K.: "macho-1 encodes localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis." *Nature* 409, 724-729 (2001).
- (2) Makabe, K.W. et al.: "Large-scale cDNA analysis of the maternal genetic information in the egg of the ascidian, *Halocynthia roretzi*, for the gene expression catalog during development." *Development* 128, 2555-2567 (2001).
- (3) Minokawa, T., Yagi, K., Makabe, K.W., and Nishida, H.: "Binary specification of nerve cord and notochord cell fates in ascidian embryos." *Development* 128, 2007-2017 (2001).
- (4) Kim, G. J., Yamada, A., and Nishida, H.: "An FGF signal from endoderm and localized factors in the

posterior-vegetal egg cytoplasm pattern the mesodermal tissues in the ascidian embryo." *Development* 127, 2853-2862 (2000).

- (5) Nishikata, T., Hibino, T., and Nishida, H.: "The centrosome-attracting body, microtubule system, and posterior egg cytoplasm are involved in positioning of cleavage planes in the ascidian embryos." *Dev. Biol.* 209, 72-85 (1999).
- (6) Nishida, H.: "Specification of developmental fates in ascidian embryos: Molecular approach to maternal determinants and signaling molecules." *Int. Rev. Cytol.* (2002) in press.