

1-2 分子発生

高田 慎治 (教授)

1) 専門領域：発生生物学

2) 研究課題：

- a) 脊椎動物の体節形成機構に関する研究
- b) 脊椎動物の鰓弓の発生機構に関する研究
- c) 脊椎動物の発生過程における細胞間シグナルの機能に関する研究

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 脊椎動物の体節は頭部側から尾部側にかけて逐次、周期的に形成される。個々の体節ユニットが時間経過とともに順次形成されていく仕組みは、すでにその理解が進んでいる多くの発生現象には認められていない独特なものであり、その解明には興味をもたれる。本研究では体節の形成と維持の機構を解明することを目的として、そこに関与する遺伝子の探索と機能解析を2つのアプローチにより行ってきた。

その一つはゼブラフィッシュの体節前駆細胞に特異的に発現する遺伝子の探索とその機能解析である。我々はこれまでに *in situ hybridization* により、ゼブラフィッシュの体節前駆細胞に特異的に発現する遺伝子を数多く同定してきた。今年度は、そのような遺伝子の一つ *rippy1* に着目し、その作用機構についての研究を進めた。脊椎動物においては *rippy1* 遺伝子が3つ存在し、そのうち *rippy1* と2は体節の発生過程で発現する。マウスにおいては、*rippy2* 遺伝子が体節の前後極性の形成に関わることがすでに示されているが、*rippy1* の機能については不明であった。そこで、今年度は *rippy1* の機能欠失マウスを作成し、その表現型を解析した。さらに、*rippy1* と2の両方の機能を欠失したマウスも作成し、その解析もあわせて行った。その結果、これら2つの遺伝子が協調して体節の分節化を制御していることが明らかになった。

b) 鰓弓は体節と同様に頭部側から尾部側にかけて逐次、周期的に形成されることが知られている。したがって、体節形成と鰓弓形成の間には何らかの共通する分子メカニズムが存在するのではないかと考えられるが、その実体は全くわかっていない。また、鰓弓内胚葉から派生する胸腺、副甲状腺などの器官は、上皮組織である鰓弓内胚葉が括れ切れることにより作られるが、上皮のシートが括れ切れるメカニズムも全く明らかになっていない。我々はマウスの3つの *rippy* 遺伝子うち、*rippy1*, 2が体節形成過程で発現するのに対し、*rippy3* は鰓弓で発現することを見いだした。そこで、鰓弓の分節形成や鰓弓から派生する器官の発生にこの遺伝子がどのように関わるのかを明らかにするため、ノックアウトマウスを作成して機能解析を行った。さらに鰓弓形成の分子機構を調べるため、ゼブラフィッシュ胚を用いて鰓弓形成に異常を呈する突然変異体を同定し、その解析を進めている。

c) 形態形成が正しく進行するためには、分泌性シグナルタンパク質の分泌や拡散が厳密に制御される必要がある。特に、受容する細胞が分泌タンパク質の濃度に応じて作用を異にする場合、すなわち組織の部域化と呼ばれるような現象が引き起こされる場合には、その濃度勾配の傾斜と広がり程度の程度が組織の形態形成や機能分化に大きな意味をもつ。我々は、Wnt タンパク質が効率良く分泌される培養細胞系を見い出し、この系を用い

て Wnt タンパク質の分泌に必要な分子機構について研究を進めている。これまでの研究から、Wnt タンパク質には特殊な不飽和脂肪酸が付加していることを見だし、この脂肪酸付加が Wnt の分泌には必要であることを明らかにした。この成果は、分泌性シグナルタンパク質の分泌機構を解明する上で、大きな意義をもつものと考えられる。今年度はこのような成果をふまえ、分泌された Wnt タンパク質の実体を生化学的に解析するとともに、脊椎動物の発生過程において実際に Wnt の分泌がどのように制御されているのかを調べるため、Wnt の分泌に関わると考えられるいくつかの因子に着目し、その機構解析を行った。

4) 学術論文

A. Kawamura, S. Koshida, and S. Takada, “Activator-to-repressor conversion of T-box transcription factors by the Ripply family of Groucho/TLE-associated mediators.” *Mol. Cell Biol.*, **28**, 3236-3244. (2008).

T. Shimizu, T. Kagawa, T. Inoue, A. Nonaka, S. Takada, H. Aburatani and T. Taga, “Stabilized β -Catenin Functions through TCF/LEF Proteins and the Notch/RBP-J $\{\kappa\}$ Complex To Promote Proliferation and Suppress Differentiation of Neural Precursor Cells.” *Mol. Cell Biol.*, **28**, 7427-7441. (2008).

R. Alvarez-Medina, J. Cayuso, T. Okubo, S. Takada, and E. Marti, “Wnt canonical pathway restricts graded Shh/Gli patterning activity through the regulation of Gli3 expression” *Development*, **135**, 237-247 (2008).

6) 国際会議発表リスト

S. Takada, “Ripply3, a negative regulator of Tbx1, is required for development of caudal pharyngeal arches and their derivatives” in “Cold Spring Harbor Meeting on Mouse Molecular Genetics”, selected as a talk, Cold Spring Harbor (U.S.A.), (2008.10-11).

S. Takada, “Specific lipidation and structure of secreted Wnt proteins” in “OIST symposium on Gradient and Signalling: from chemotaxis to development”, selected as a talk, Okinawa (Japan), (2008.11).

7) 招待講演

S. Takada, “Transcriptional repression of mesp gene by a Groucho/TLE associated modulator Ripply” at University of Cologne, Cologne (Germany), (2008.4).

S. Takada, “Repression of T-box transcriptional factors by Ripply” Hannover (Germany), April 23, (2008.4).

S. Takada, “Identification of a Tbx1 modulator required for development of caudal pharyngeal arch and their derivatives” at Albert Einstein College of Medicine, New York (U.S.A.), (2008.11).

S. Takada, “T brake arranged by the Ripply family- Roles of the Ripply family of transcription factors in the development of somite and pharyngeal apparatus -” in U. T. M. D. Anderson Cancer Center/RIKEN-CDB Joint Symposium: Vertebrate Development and Organogenesis, Houston (U.S.A.), (2008.11).

S. Takada, “T brake arranged by the Ripply family- Roles of the Ripply family of transcription factors in the development of somite and pharyngeal apparatus” in San Francisco-Japan Joint Meeting on Vertebrate Organogenesis, San Francisco (U.S.A.), (2008.11).

Tadashi Okubo, “Tbx-associated transcriptional corepressor, Ripply3, plays essential roles in pharyngeal development” in annual meeting of Society for Developmental Biology, Philadelphia (U.S.A.), (2008.6).

高田慎治, “新規転写抑制因子 Ripply の作用機作と形態形成における役割” 東京女子医大 (2008.5).

8) 学会および社会的活動

日本発生生物学会, 日本分子生物学会,
Society for Developmental Biology