

# メダカをモデルとした細胞型特異的遺伝子制御機構に関する研究

著者	大道 裕
学位名	博士(理学)
学位授与機関	甲南大学
学位授与年度	平成26年(2014年度)
学位授与番号	34506甲第90号
URL	<a href="http://doi.org/10.14990/00001546">http://doi.org/10.14990/00001546</a>

氏名・本籍	大道 裕 (大阪府)
学位の種類	博士 (理学)
報告番号	甲第 90 号
学位授与の日付	平成 27 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
論文題目	メダカをモデルとした細胞型特異的遺伝子制御機構に関する研究
審査委員	(主査) 教授 日下部 岳広 (副査) 准教授 向 正則 (副査) 准教授 久原 篤

## 論文内容の要旨

一つの個体を構成する同じゲノム情報をもつ細胞が、異なる個性を獲得する過程で中心的な役割を果たすのは、細胞によって特異的な遺伝子群を発現するメカニズムである。多くの生物のゲノム DNA 配列が解明された現在においても、細胞によって異なる遺伝情報が読み出されるメカニズムは、依然として大きな謎である。近年、遺伝子制御研究のモデル生物として注目され、研究が盛んになってきた生物として、脊椎動物と同じ脊索動物門に属する海産動物のホヤがある。ホヤのオタマジャクシ幼生は、約 3000 と少数の細胞からなるにも関わらず、脊椎動物と共通のボディープランをもっている。胚発生が体外で進行し、胚が透明ですべての細胞を顕微鏡下で観察することが可能で、個体レベルの遺伝子機能操作も容易である。さらにゲノムサイズが小さく、シス調節配列の発見や解析が容易であるという利点もある。ホヤはモデル脊索動物としてさまざまな利点があるが、その一方で、特殊化する方向へ進化してきた生物であり、脊椎動物とのさまざまな相違点も存在する。ホヤと同様な研究モデルとしての利点を持ちながら、脊椎動物に特有の性質も備えたシンプルなモデルとして注目されているのが、ゼブラフィッシュやメダカなどの小型魚類である。とくにメダカは、ゲノムサイズがゼブラフィッシュの半分であり、シス調節領域のゲノムレベルおよび個体レベルの解析に優れた特徴を備えている。

本研究では、メダカを個体レベルで細胞特異的な遺伝子発現制御機構を解析するためのモデル脊椎動物ととらえ、メダカを用いて新奇現象あるいはあらたに発見された分子の普遍性を明らかにすることを目指した。まず、ホヤを用いて発見された、細胞特異的な転写制御に関わる 2 つの現象について、その普遍性をメダカを用いて調べた。一つは、生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH) の非生殖現象における新奇役割の可能性である。もう一つの現象は、ホヤ胚を用いて見いだされた背腹軸

に沿った遺伝子発現制御と遺伝子配置およびクロマチンレベルの遺伝子発現制御機構である。メダカを用いて、細胞特異的なシス調節領域を同定し、個体レベルでその活性を解析することにより、ホヤでみいだされたこれらの新奇現象が、脊椎動物にもあてはまる普遍的なものであることを示した。さらに、脊椎動物に特異的な細胞の個性化を伴う現象として、網膜における視細胞の多様性形成機構に注目し、メダカを用いた解析を行った。網膜視細胞の個性化に関わる分子機構として、錐体オプシン遺伝子とシス制御領域を共有する2つの microRNA を発見し、転写後調節と転写制御が共役することによる、視細胞の個性化に関わる新しい調節メカニズムを提唱した。

## 審査結果の要旨

受精卵という1個の細胞が分裂を繰り返し、多くの細胞からなる体を構築する過程で、細胞が時間とともに性質を変化させ、異なる性質を獲得する細胞の個性化は、ヒトを含む多細胞生物の発生が成立するための中心的な現象の一つである。この過程で重要な役割を果たすのは、細胞によって特異的な遺伝子群を発現するメカニズムである。この過程には、ゲノム配列のうち、タンパク質をコードしない配列に含まれるシス調節配列や非コード RNA をコードする配列が関わっている。近年、ゲノム中のこのような調節配列の候補が大量に同定されているにも関わらず、依然として個々の遺伝子の発現制御機構の理解はきわめて断片的な段階に留まっている。困難な状況をもたらしている大きな理由の一つは、膨大な数のシス配列の候補の機能を、個体レベルで簡便に解析することが難しいことである。

本研究において申請者は、簡便に個体レベルで発生過程のシス調節配列の機能解析を行うモデル動物としてメダカに着目した。メダカは胚が透明で、発生段階における観察が容易であり、初期胚に顕微注入法によって容易に外来遺伝子を導入し、発現させることが可能である。また、他の多くのモデル脊椎動物よりも遺伝子間距離が短く、転写調節配列の解析に適していると考えられる。申請者は、このような実験動物としてのメダカの利点を生かして、新たに発見された3つの生命現象の普遍性を明らかにした。これらのうち2つは、よりシンプルなモデル脊索動物であるホヤで発見された「生殖腺刺激ホルモン放出ホルモンの生殖とは関わりのない新しい生理機能」と「胚の背腹軸に沿ったパターンを作り出す遺伝子スイッチ機構」である。メダカを用いて細胞特異的な遺伝子発現に必要なシス制御領域を同定し、個体レベルでの活性を解析することにより、これらの新奇現象がホヤに限定された特殊な現象ではなく、脊椎動物にも当てはまる普遍的なものであることを示した。申請者はさらに、脊椎動物に特異的かつ普遍的な細胞の個性化を伴う現象として、網膜における視細胞の多様性機構に着目し、視細胞の多様性の制御因子の候補となる2つのマイクロ RNA を発見し、転写後調節と転写制御が共役することによる新たな調節メカニズムを提唱した。申請者の研究は、これまで他の脊椎動物では知られていなかった現象の存在と普遍性を示したものであり、モデル生物としてのメダカの有用性を証明すると同時に、発生現象や生理機能の新しい制御機構の解明につながる重要な研究成果であると考えられる。

本研究の成果は、「第17回国際発生生物学会議(2013年、メキシコ)」、「第7回国際被囊

動物会議（2013年，イタリア）」、「日本動物学会第83回大会（2012年，豊中）」、「日本動物学会第84回大会（2013年，岡山）」、「第35回日本分子生物学会年会（2012年，福岡）」、「第18回小型魚類研究会（2012年，京都）」、「第19回小型魚類研究会（2013年，仙台）」などの学会で発表されている。また，本研究の成果は，3編の副論文として権威ある国際学術誌（Developmental Biology, Science, PLoS ONE）に掲載され，国内外において高い評価を受けている。

2015年1月30日，本学の学位規程に従い公開講演を行い，本論文に関する説明と質疑応答を行った。申請者の説明はきわめて明快であり，応答内容も十分満足できるものであった。

以上により審査委員は本論文提出者（大道裕）が，博士課程の修了に必要な所定の単位を修得し，かつ，必要な研究指導を受け，博士論文の審査及び最終試験に合格したので，博士（理学）の学位を授与せられるに充分なる資格をもつものであると認める。