

ゼブラフィッシュ突然変異体スクリーニングによる中枢神経領域化機構の解明

Genetic screening to reveal the mechanism controlling the regional specification of the central nervous system in zebrafish.

プロジェクト代表者：二階堂昌孝（理学部生体制御学科・助手）

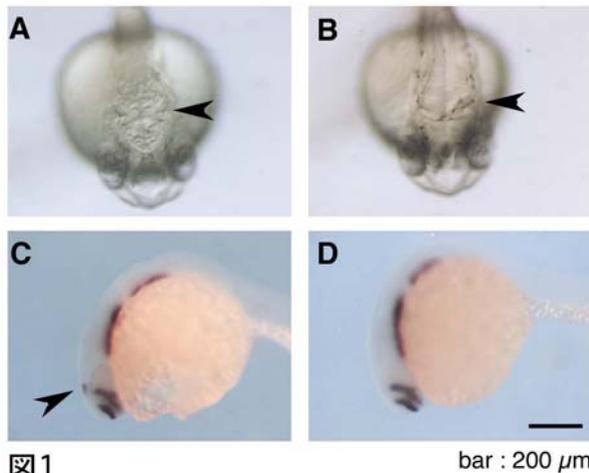
Project Leader : Masataka Nikaido (Departement of Regulation Biology, Faculty of Science · Research Associate)

1. 序論

脊椎動物の中枢神経系は発生初期において前方から前脳、中脳、後脳、脊髄の順に分化する。この後、特に前脳（将来の端脳、間脳）は各種転写制御因子の発現パターンなどから6領域に細分化していることがマウスを用いた研究から示されており、脳はこのような領域を単位として分化すると考えられる。このため、脳の領域化の機構を知ることには、脳の形成過程を理解する上で必要不可欠である。しかしながら現在のところ、前脳部から後脳部に至る各領域を特徴づける遺伝子群は明らかになっていても、それらの適切な発現を制御する、より上位の機構に関してはほとんど明らかになっていない。そこで本研究では、体が透明なために特別の処理をすることなく脳構造が観察可能である点や、突然変異体の作成が可能であるという点で優れた実験動物であるゼブラフィッシュを脊椎動物全般のモデルと捉え、遺伝学的スクリーニングにより、中枢神経系の発生における領域化に異常を示す変異体を単離することを目指した。

2. 結果と考察

本研究では、変異原にエチルニトロソウレア（ENU）を用い、スクリーニング方法としては、古典的な三世代交配法を基本として、形態、および遺伝子マーカーの発現パターンの変化を指標として変異体の同定を行った。使用した遺伝子マーカーとしては、初期の神経板の前後軸に沿った発現する複数の遺伝子（*six3*, *pax2.1*, *krox20*, *caudal*）の他、将来の端脳や間脳に特異的に発現する遺伝子（*dlx2*）を用いた。その結果、これまでにファミリーのスクリーニングを行うことができ、その中から、我々の着目する中枢神経系の異常を示す変異体を3系統得ることができた。図1にその代表例を示す。



まず、図 1A, B についてであるが、この変異体 (図 1A) では、図 1B の野生型と比較すれば明らかなように、後脳部 (矢尻) の形態が異常となっている。これについては、類似の表現型を示す変異体、*parachute* と相補性試験の結果、相補しなかったため、同じ遺伝子の異常と考えられた。*parachute* 変異体の原因遺伝子はすでに明らかになっており、細胞接着因子の *n-cadherin* である。このため、図 1A で見られるような形態異常は脳の領域化の異常ではなく、最終的な形態形成過程での、細胞間接着の異常によると考えられた。次に図 1C, D であるが、この変異体 (C) では矢尻部に、正常胚 (D) では認められない異所的な *dlx2* の発現が認められた。このことは *dlx2* 遺伝子が端脳腹側や間脳を特徴づける遺伝子であることから、脳領域のパターン化異常と位置づけることができる。現在、この変異体の原因遺伝子のクローニングを行っている。

3. 終わりに

今回の研究では、脳領域のパターン化の異常という観点からファミリーのスクリーニングを行い、目的にかなう変異体を 1 系統単離することができた。しかしながら脳領域のパターン化にはまだまだ多くの遺伝子が関わっているはずであり、今後も引き続きスクリーニングを行っていく必要がある。また、これまでに得られた変異体については、その原因遺伝子の解明に力を注ぐ考えである。