

鰓弓神経節の形成に異常を示す変異体*nep*の原因遺伝子クローニング
Identification of responsible gene for epibranchial ganglia-deficient mutant, *nep*

二階堂昌孝^{1,2,*}、佐藤淳^{2,3}、和田浩則⁴、田中英臣^{2,4}、西脇優子⁵、川上厚志^{2,6}、政井一郎^{2,5}、
岡本仁^{2,4}

Masataka Nikaido^{1,2,*}, Atsushi Sato^{2,3}, Hironori Wada⁴, Hideomi Tanaka^{2,4}, Yuko Nishiwaki⁵,
Atsushi Kawakami^{2,6}, Ichiro Masai^{2,5} and Hitoshi Okamoto^{2,4}

¹埼玉大学理学部 生体制御学科

Department of Regulation Biology, Faculty of Science, Saitama University

²科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業

CREST, Japan Science and Technology Agency

³東京工科大学 バイオニクス学部

School of Bionics, Tokyo University of Technology

⁴理化学研究所脳科学総合研究センター 発生遺伝子

Laboratory for Developmental Gene Regulation, RIKEN Brain Science Institute

⁵理化学研究所・政井独立主幹研究ユニット

Masai Initiative Research Unit, RIKEN

⁶東京大学大学院理学系研究科 生物科学専攻

Department of Biological Science, Graduate School of Sciences, University of Tokyo

Abstract

In vertebrates, epibranchial ganglia, consisted of facial, glossopharyngeal and vagal ganglia, have pivotal roles for maintenance of inner environment by transmitting somatosensory stimuli and monitoring of beat rate of the heart and so on. In our past study, we have identified two lines of mutant affected in formation of epibranchial ganglia in zebrafish. One of them, named *non-epibranchial (nep)*, lacks all epibranchial ganglia at two days after fertilization with earlier molecular markers relatively normal, suggesting that disrupted gene in this mutant is required for later differentiation or maintenance of the epibranchial ganglia. To identify it, we positioned *nep* gene on the linkage group 20 and found some genetically related genes around *nep* locus. Based on these observations, we are now trying to clone *nep* gene.

Key words: zebrafish, cranial nerve, epibranchial ganglia, facial, glossopharyngeal, vagal

〒338-8570 埼玉県さいたま市桜区下大久保 255

電話・FAX: 048-858-3470 e-mail: mnikaido@post.saitama-u.ac.jp

1. 緒言

脊椎動物の頭部感覚神経系のうち顔面、舌咽、迷走神経節は、鰓弓神経と呼ばれている。これらは皮膚からの体性感覚や味覚の伝達のほかに、心臓の拍動や内臓の運動を監視する機能を持つ、生命維持に重要な神経系である。また、機能面での重要性だけでなくその発生も興味深く、中枢神経系よりも簡素な系でありながら、神経節の形成から、ターゲットへの神経突起の伸長、回路形成という神経ネットワーク構築の重要なステップを基本的には踏襲する。このことは、神経回路網の形成機構研究のモデルという意味での重要性も示唆している。

我々はこれまで、*islet1* と呼ばれる遺伝子の転写制御領域を緑色蛍光タンパク質遺伝子 (*green fluorescent protein, gfp*) に連結して導入することで、鰓弓神経節を含む一部の脳神経を可視化したトランスジェニックゼブラフィッシュを作成し、これに対して遺伝学的スクリーニングを行うことで、脳神経の発生過程に異常を示す突然変異体を単離してきた。その過程で、鰓弓神経節異常の突然変異体として2系統の変異体を単離したが、本研究ではそのうちの一つ、*non-epibranchial (nep)*の表現型の解析と、原因遺伝子単離を行っており、これに関する現在までの成果について概説する。

2. 研究成果

まず、この変異体の表現型について解析を行った。この変異体の単離のきっかけともなった鰓弓神経節の異常についてであるが、変異体作成に用いたGFP遺伝子を導入した魚における蛍光で観察したところ、受精後2日目から、神経突起の伸長が見られないことを含めた明らかな形成不全が認められた。この形成不全は顔面、舌咽、迷走神経節全てに及び、この変異体で破壊されている遺伝子（以降

nep と呼称）は鰓弓神経節全ての発生に関わっていると考えられた。さらに、蛍光での観察が可能となる前の異常を確認するために、鰓弓神経節に発現する遺伝子である *neurogenin1* を指標として、受精後1日目の胚を解析したところ、この遺伝子の発現には異常は認められず、*nep* 遺伝子は鰓弓神経節の初期の誘導ではなく、その後の各神経節の分化、あるいは維持に必要な遺伝子であることが明らかとなった。また、その他の異常として、受精後3日目において、顎の骨の形成が著しく抑制されることが確認された。これについては顎の骨の形成に関与する神経提細胞の誘導・分化に異常があるのではないかと考え、解析を行ったが、現在の所、少なくとも神経提細胞の誘導には異常が無かった。

以上のような表現型がどのような遺伝子の異常によって引き起こされるか明らかにするには、*nep* 遺伝子の同定が不可欠である。そこで我々は現在、ゼブラフィッシュゲノムプロジェクトで明らかにされたゲノム配列を手がかりにこの遺伝子のポジショナルクローニングを行っている。その結果、*nep* 遺伝子は第20連鎖群上に存在することが分かり、さらに *nep* 遺伝子があると考えられる領域の近傍100 kb 付近に存在する遺伝子もいくつか明らかとなった。今後はこれらの候補遺伝子の塩基配列を解析し、実際に変異箇所を同定することで、*nep* 遺伝子を突き止めたいと考えている。