



本件の報道解禁につきましては、平成29年12月16日(土)午前1時30分以降(日本時間)をお願いいたします。

平成29年12月15日

ウニの発生における遺伝子の核内局在と発現の関連性を解明

【本研究成果のポイント】

- ウニを実験材料として初めて、細胞核内における遺伝子の空間的局在とその胚の発生・成長にともなうダイナミックな変化を明らかにしました。
- 動物の個体発生をモデルとし、生物学を主たる専門とする実験系研究者と数理科学系研究者の緊密な連携により進められた融合研究の成果です。

【概要】

広島大学大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻の坂本尚昭准教授と粟津暁紀准教授らの研究グループは、ウニの成長にともなう核内構造の変化を解析し、発生過程で発現する初期型ヒストン遺伝子が、発現の活発な桑実胚期に核の内側に局在し、異なる染色体上のヒストン遺伝子どうしが高頻度に相互作用することを明らかにしました。

ウニの発生に関与する遺伝子の研究では、各遺伝子の役割とその発現を調節するネットワークを中心に解析が進められていましたが、その遺伝子を含む核の構造と遺伝子発現との関連については解析されていませんでした。今回、ウニの発生を研究する実験系研究者と数理科学系研究者の緊密な連携により、ウニの初期型ヒストン遺伝子が発現の活発な桑実胚期前後の間だけ核の内側に局在し相互作用すること、この相互作用が遺伝子の発現とよく相関することを見出しました。これは、遺伝子の核内での局在とその発生に伴うダイナミックな変化をウニで示した初めての成果であり、ウニの発生の分子メカニズムをさらに理解する上で重要な一歩となるものです。

本研究成果は、英国の科学雑誌「Journal of Cell Science」に平成29年12月15日に掲載され、この号の「In This Issue」にも取り上げられます。

《論文情報》

掲載雑誌 : Journal of Cell Science

論文タイトル : Dynamic changes in the interchromosomal interaction of early histone gene loci during early development of sea urchin.

著者 : Masaya Matsushita*, Hiroshi Ochiai, Ken-ichi T Suzuki, Sayaka Hayashi, Takashi Yamamoto, Akinori Awazu, Naoaki Sakamoto# (*筆頭著者、#責任著者)

DOI 番号 : 10.1242/jcs.206862

【背景】

ウニは高校の生物学の教科書にも登場し、また見た目に反して昆虫等よりも進化的位置や初期発生の様相がヒトに近く、古くから発生学のモデル生物として扱われてきました。また、遺伝子導入法が確立していること、胚の透明度が高く観察しやすいこ

とから、現在でも発生をつかさどる遺伝子を解析するための実験動物として使われています（図1）。

近年、遺伝子の発現（注1）と染色体（注2）の振舞いと関連が注目されており、細胞の分化や遺伝子の活性化にともなって核内での遺伝子の位置が変化することや、異なる染色体が近接して相互作用するなどの現象が観察されています。しかし、このような現象は主にシャーレ上で培養されている細胞で解析されており、受精から細胞が立体的に増殖し体を形づくっていく発生過程を通じた解析は行われていませんでした。

ウニの発生研究ではこれまで、発生に関与する遺伝子の役割とその発現調節を中心に研究が進められてきました。しかしその発現調節の現場である細胞の核内の構造と遺伝子発現との関連は、ほとんど理解されていませんでした。ウニの初期発生では、胚を構成する細胞が盛んに分裂しており、その間に核のサイズが小さくなり、核内部の構造もダイナミックに変化します。このような核内環境の劇的な変化の中でいかにして遺伝子を安定に働かせるかは、発生を進める上での重要な課題となります。

本研究では、日本国内では食材として知られ、研究材料としてもよく使われるバフンウニを用いて、ウニの初期発生で活発に発現する初期型ヒストン遺伝子（注3）を可視化し、初期発生における核内での位置とその制御機構について解析を行いました。

【研究成果の内容】

はじめに、ウニの初期発生における染色体の振舞いや遺伝子の位置を解析するために、ウニ胚を用いた三次元蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション（3D-FISH）法を確立しました（図2）。初期型ヒストン遺伝子と特異的に結合する蛍光標識プローブを作製して3D-FISHを行ったところ、4つの蛍光スポットが観察されました（図3）。つまり、ウニの1つの細胞核には初期型ヒストン遺伝子が4箇所あることが明らかになりました。

そこで、さまざまな発生段階のウニ胚を用いて3D-FISHを行ったところ、初期型ヒストン遺伝子の発現が活発な桑実胚において1～4個の蛍光スポットが観察され、異なる染色体上の初期型ヒストン遺伝子どうしが互いに近接して相互作用することが明らかとなりました（図3）。そしてその相互作用の頻度は、この遺伝子の発現が抑制される発生段階では低下していました。さらに、核内における遺伝子の空間的局在を解析するために、各蛍光スポットから核の輪郭までの最短距離を各発生段階で測定しました。しかし、初期発生では核の大きさが変化するため、核の輪郭からの距離だけで核内の局在を単純に判断することができません。そこで、当該遺伝子がランダムに局在すると仮定した場合の距離の分布を算出し、それと実測値がどのくらい相関するかを数理的に解析しました。その結果、桑実胚では核の内側に局在する傾向にありましたが、発現が完全に抑制される原腸胚にはランダムに局在することが明らかとなりました。

このような遺伝子の振舞いと発現との関連性を調べるために、初期型ヒストン遺伝子の発現を薬剤等により阻害すると、初期型ヒストン遺伝子間の相互作用の頻度も低下しました。したがって、初期型ヒストン遺伝子同士の相互作用は遺伝子の発現制御と関連することが示されました。このような異なる染色体上の初期型ヒストン遺伝子の相互作用は、核内環境が劇的に変化する初期発生において、遺伝子の安定かつ効率的な発現に寄与しているのではないかと推測されます。

【今後の展開】

今回の成果は、ウニの初期発生で発現する初期型ヒストン遺伝子の核内における振舞いを明らかにしました。これはウニの発生を核内の動的な変化と関連付けて捉えていく第一歩の成果です。今後は、このような遺伝子の振舞いを制御する因子や駆動力となる因子の探索を進めることにより、個々の細胞内における振舞いの分子メカニズ

ムが解明されると期待されます。さまざまな遺伝子の振舞いを解析することにより、組織間での振舞いの連携などが明らかとなり、ウニを基盤に『多細胞動物の発生』をつかさどる遺伝子の働きを染色体の三次元的な変化と関連付けて捉え、発生のダイナミックな全体像を理解できるようになると期待されます。

【参考資料】

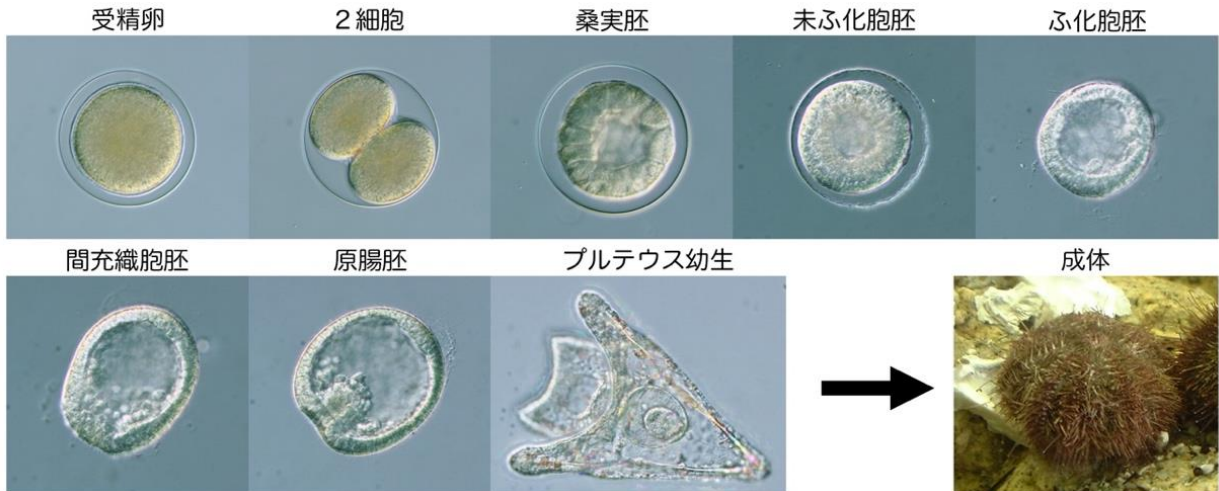
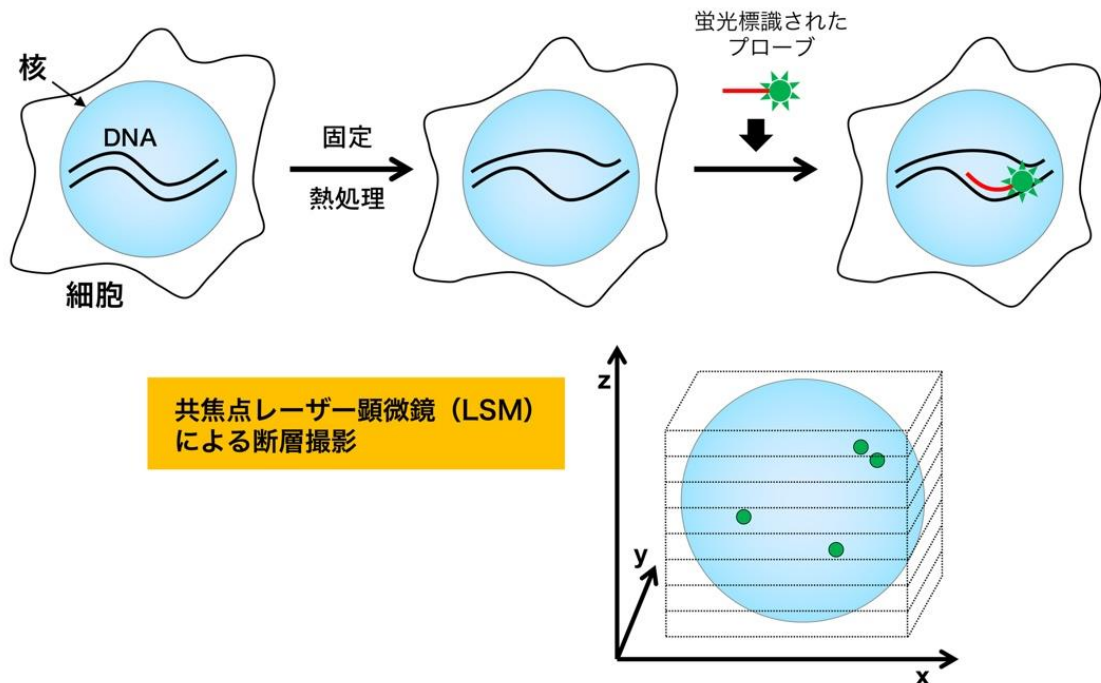


図1 ウニの発生

ウニの発生は1つの細胞である受精卵からスタートし、卵割という速い細胞分裂により細胞数が増えていきます。その後、桑実胚、未ふ化胞胚、ふ化胞胚、間充織胞胚、原腸胚と発生が進み、プルテウス幼生となります。プルテウス幼生はさらに成長し、変態をへて馴染みのあるトゲトゲのウニ（成体）になります。



共焦点レーザー顕微鏡 (LSM) による断層撮影

図2 三次元蛍光 *in situ* ハイブリダイゼーション (3D-FISH) 法の概要

3D-FISH 法では、細胞の核内にある目的の遺伝子に蛍光標識されたプローブを結合させ、遺伝子を『見える化』します。これを共焦点レーザー顕微鏡で観察して断層撮影し、蛍光スポットの位置を解析します。

桑実胚

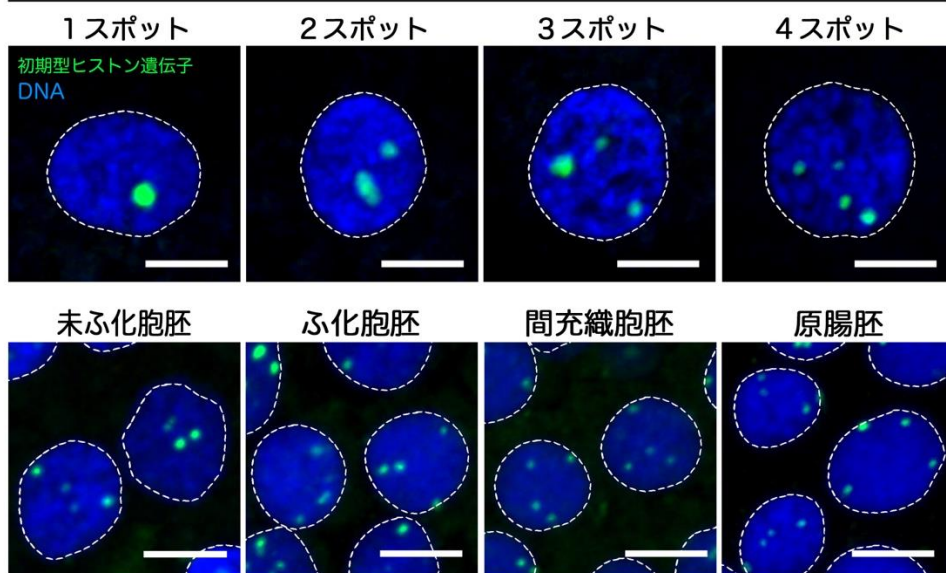


図3 初期型ヒストン遺伝子の3D-FISH解析

初期型ヒストン遺伝子の発現が活発な桑実胚では、遺伝子の位置を示すスポットが核の内側に局在しており、互いに相互作用するために1～4個のスポットとして観察されました。しかし、発生が進んで遺伝子が不活性化されるにしたがって、遺伝子のスポットは核の周辺部に移動し、4個の別々なスポットとして観察されるようになりました。

【用語解説】

注1. 遺伝子の発現：

遺伝子は細胞の様々な性質を決める情報であり、細胞の核の中でDNAという物質として存在しています。このDNA中の情報がmRNAへと写し取られ、タンパク質が合成される過程を遺伝子の発現といいます。

注2. 染色体

生物の遺伝情報を担うDNAは、染色体というまとまりとして存在する。細胞の核の中では、特定の領域に広がって存在していますが、細胞が分裂するとき棒状に凝縮されて遺伝情報を運びます。

注3. 初期型ヒストン遺伝子

ヒストンは、DNAをパッキングして核内に収納するためのタンパク質です。細胞分裂が盛んな初期発生で必要となる大量のヒストンを合成するのが、初期型ヒストンです。

【お問い合わせ先】

広島大学院理学研究科 数理分子生命理学専攻
准教授 坂本尚昭
Tel：082-424-7447 FAX：082-424-7327
E-mail：naosaka@hiroshima-u.ac.jp

発信枚数：A4版 4枚（本票含む）