

形態形成シグナル研究グループ

Morphogenetic Signaling Group

グループディレクター 林 茂 生
HAYASHI, Shigeo

発生における組織と器官の形態を決定する細胞レベルの原動力、すなわち細胞間シグナル・細胞運動・細胞運命決定などの基盤となる機構の分子メカニズムを研究することを目的とする。平成 12 年 5 月に林 茂生がグループディレクターとして就任し、6 月にテクニカルスタッフとして秋元 愛、10 月、12 月にはカリフォルニア大ロサンゼルス校より研究員として津田玲生、林 永美を採用して研究体制の整備を進めた。発生・再生総合研究センターの研究本館が未完成なので、本年度の研究は国立遺伝学研究所との共同研究として国立遺伝学研究所系統生物研究センターにおいて行った。

1. ショウジョウバエ胚発生における肢原基形成機構 (久保田*, 後藤, 江藤, 林)

ショウジョウバエの脚、翅の原基は胚発生中に共通の前駆細胞群として誘導を受けた後に 2 つの細胞群に分離して脚、翅の成虫原基を形成する。この共通の肢前駆細胞群が誘導された時点においては背側の部分にシグナル分子 Dpp が発現しシグナル強度依存的に脚、翅の分化を制御することが以前の我々の研究から知られていた。今回我々は肢前駆細胞群の腹側側に受容体チロシンキナーゼ EGFR が活性化されることを見いだした。EGFR の活性化は Dpp の標的遺伝子の発現を阻害し、翅細胞の分化を抑制する。この結果は Dpp と EGFR が肢前駆細胞群の背腹軸上で非対称的に活性化されることが翅・脚の分化に必須な条件であることを示す。

* 研修生

2. 気管形成の細胞生物学 (千原, 林)

Wnt ファミリーのリガンドは脊椎動物の肺胞形成の際に強く発現するがその機能は不明である。ショウジョウバエの気管発生において Wingless は気管原基に隣接した外胚葉において発現し、袋状の気管原基が管状化する過程に必須である。我々は Wg シグナルが気管の dorsal trunk において Delta, Escargot そして spalt をそれぞれ異なる仕組みで制御することにより管のかたち、太さ、進展の方向を制御することを示した。この結果は Wingless が組織のかたちを決める仕組みをよく説明する。

3. 核マトリックスタンパク Plexus による翅脈特異的転写の調節機構 (亦勝, 林)

我々は成虫翅の翅脈パターンに乱れを来す突然変異 plexus は新規の核マトリックスタンパク質の機能欠損によるものであることを昨年報告した。本年度は plexus と酷似した表現型を示す net 変異との相互作用を追求した。net は bHLH 型の転写調節因子をコードしていることがすでに報告されている。我々は plexus が net と相乗的に作用してシグナル分子 Rhomboid の翅脈特異的発現を制御することを見いだした。更にこの現象の背景には Net の核内におけ

る局在化の制御があることを見いだしたので更に解析をすすめている。

4. ショウジョウバエ GAL4 エンハンサートラップ系統のマッピングと発現情報の統合データベース構築 (後藤, 谷口, 佐渡, 林)

遺伝子転写のエンハンサー活性の同定は生命の発生や高次機能に関わる遺伝子の発見と遺伝子機能の解析に有用な手段となる。染色体上に散在するエンハンサーを網羅的に同定することはゲノムの総合的な機能解析に欠くことのできないアプローチである。ショウジョウバエゲノムは約 13600 個の遺伝子を持つと推定されているが、そのうち発現の解析がわずかでもなされているものは未だ 10%以下にすぎない。ゲノムのもつ豊富な転写調節能力を理解するためにはより多くの遺伝子の発現パターンを記載することが重要である。ショウジョウバエにおいてこの目的にはエンハンサートラップ法が最も適している。欧米での研究により 1000 余りのエンハンサー活性検定用の P 因子ベクター (主に P[lacZ]) の挿入株が得られている。これらは主に致死遺伝子に対する挿入であり全遺伝子への挿入を得るにはいまだほど遠い。そこで日本の NP コンソーシアムによって 4528 の GAL4 エンハンサートラップ系統が作成された。

エンハンサートラップ挿入とゲノムシーケンス上の転写単位との対応付けをはかることを目的として挿入位置の配列決定を行った。これらの系統の成虫を凍結保存したサンプルからのゲノミック DNA の抽出, inverse PCR, シーケンシングなどをマイクロタイタープレート単位で処理する方法を最適化し、シーケンシングセンターにおいて配列決定を行った。得られた配列でショウジョウバエゲノム配列に対して blast サーチを行いゲノム地図上にマップした。

4256 系統の 5' 近傍配列を決定し、そのうち 70% (2966 系統) は染色体上の特定の位置にマップされた。マップされた挿入はホットスポットを考慮すると 1722 の挿入サイトに分類され、それらの殆どは遺伝子近傍に見つかった。これらのデータを GAL4 の発現パターンのデータと統合したデータベースを構築中で、P 因子挿入特異性についての解析も進めている。

*Research Subjects and Members of Morpho-
genetic Signaling Group*

1. Early Development of Thoracic Limbs
2. Cell Biology of Tracheal Morphogenesis
3. Control of Wing Vein Patterning
4. Large Scale P-element Screen for Patterning Genes

Group Director

Dr. Shigeo HAYASHI

Research Scientists

Dr. Leo TSUDA

Dr. You-Ming LIM

Technical Staffs

Ms. Ai AKIMOTO (M. Sc)

Visiting Members

Dr. Kazuhiro ETO (Tokyo Med. Dent. Univ.)

Dr. Satoshi GOTO (Natl. Inst. Genet.)

Ms. Misako TANIGUCHI (Natl. Inst. Genet.)

Ms. Yukiko SADO (Natl. Inst. Genet.)

Trainees

Mr. Kazumasa KUBOTA (Tokyo Med. Dent. Univ.)

Mr. Takahiro CHIHARA