

細胞運命研究チーム

Laboratory for Cell Fate Decision

チームリーダー 澤 斉
SAWA, Hitoshi

生物の発生の際、1つの細胞は（例えば受精卵）分裂しながら多種多様な細胞を作り出す。どのようにして細胞の違いは生み出されるのであろうか？この命題を詳細に解析するには、生きた動物内で、単一の細胞のふるまいを観察する必要がある。線虫 *C. elegans* は体が透明で、スライドグラス上、つまり顕微鏡下で個々の細胞を観察しながら発生させることができる。我々はこの利点を用いて細胞系譜のライブ観察を行い、またこれと遺伝学を組み合わせることで、細胞運命が決定される機構を研究している。特に分裂して生じた娘細胞が違う運命をとる非対称細胞分裂に注目し、その機構の解明を目指している。また、複数のシグナル伝達経路がどのように統合されて細胞運命を制御しているのかという問題にも取り組んでいる。

1. 非対称分裂に異常のある変異体の同定（笹川、竹下）

我々は *C. elegans* の尻尾にある T 細胞の非対称分裂が LIN-44/WNT と LIN-17/Frizzled を介したシグナル経路によって制御されていることを明らかにしている。野生型では T 細胞の前側の娘細胞からは表皮系の細胞が、後ろ側の娘細胞からは神経系の細胞が作られるが、*lin-17* 変異体ではどちらの細胞も表皮系の細胞が作られ、神経系の細胞が作られない。この非対称分裂に関与している遺伝子を同定するために、T 細胞から神経系の細胞が作られない変異体をスクリーニングし、50 種類以上の遺伝子が関与していることを明らかにした。

2. WNT による細胞極性形成機構の解析（竹下、水本^{*1)}

T 細胞の分裂を制御している LIN-44/WNT は T 細胞の後方で発現しており、T 細胞に後ろ向きの極性を誘導していると考えられる。LIN-44 が細胞極性を誘導することを確認するために、LIN-44 を T 細胞の前側で強制発現させた。その結果 *lin-44* 変異体の表現型が増強され、LIN-44 が細胞極性の向きを制御していることを明らかにしている。LIN-44 の下流に働く WRM-1/ β カテニンの細胞内局在を調べたところ、非対称分裂後娘細胞間で核局在が非対称で後ろ側の娘細胞で特に核局在していることが明らかになった。

3. MEIS/PBX/HOX による非対称分裂の制御機構の解析（荒田^{*2)}

T 細胞の非対称分裂が異常になる変異体の解析の結果、この分裂に、哺乳類の転写因子 MEIS に類似した PSA-3、PBX に相同な CEH-20 および HOX タンパクである NOB-1 が関与していること、PSA-3 の発現が POP-1/TCF によって直接制御されていることも明らかにしている。さらに PSA-3 の発現は NOB-1 によっても制御されていることを明らかにした。非対称分裂の際、Wnt シグナルと位置 identity が統合されて、PSA-3 が特異的に発現することが明らかになった。

4. SWI/SNF 複合体の非対称分裂における役割（内田）

我々は以前、クロマチン構造の変換を行う SWI/SNF 複合体の構成因子 Brg1 と Ini1 の線虫ホモログが非対称分裂に関与していることを明らかにしている。また、最近別の構成因子 BAF250 と BAF53 のホモログも関与することを見いだしている。さらに、これらの遺伝子の変異体では、本来 T 細胞の娘細胞間で非対称に発現する *tlp-1* 遺伝子の発現が異常になっていることを明らかにした。

5. 微少管の制御に関与する遺伝子の解析（大石^{*2)}

T 細胞の非対称分裂に異常のある変異体 *rmd-1* をクローニングし、coiled-coil 領域を持つ新規のタンパクをコードしていることを明らかにしている。また RNAi 法により *rmd-1* 遺伝子の初期胚での機能を調べたところ、スピンドルの回転や染色体分配など微少管が関与する様々な現象に必要であることが明らかになった。また RMD-1 タンパクは *in vitro* において微小管と直接相互作用することを明らかにした。

6. 生殖腺が過剰にできる変異体の解析（藤田）

cyclin E 遺伝子 *cye-1* の変異体では生殖巣前駆細胞である Z1a および Z4p 細胞の非対称分裂が異常になり、生殖巣の形成をガイドする distal tip 細胞が過剰にできることを明らかにしている。また *cye-1* 変異体で DTC に分化してしまう細胞は本来休止期 (quiescent) の細胞である。cyclin E が分裂しない細胞において細胞分化を抑制していることが明らかになった。

7. 転写 Mediator 複合体の非対称分裂における役割（柴田、澤）

Mediator は *in vitro* の転写系において、多数の DNA 結合型転写因子と RNA ポリメラーゼをつなぐ、巨大な複合体である。Mediator 複合体の構成因子 LET-19/TRAP240、DPY-22/TRAP230、*cic-1*/cyclin C および CDK-8 が複数の細胞の非対称分裂に関与していることを明らかにした。さらに、これらの遺伝子の変異体では、本来 T 細胞の娘細胞間で非対称に発現する *tlp-1* 遺伝子の発現が異常になっていることを明らかにした。

8. 新規蛍光タンパク Kaede を用いた細胞系譜の観察 (笹川)

Kaede は紫外線照射によって蛍光が緑から赤に変化する。Kaede を *C. elegans* に発現させたところ、紫外線照射によって効率よく変色できることを明らかにしている。また、Kaede を用いて特定の細胞 (T, Q, V5.p 細胞) を標識してその細胞の系譜を解析できることを明らかにした。

9. Mediator 複合体によるシグナル伝達経路の統合 (澤)

動物の発生の際、単一の細胞のふるまいは多くの場合複数のシグナル経路によって制御されている。しかし、これらのシグナルがどのようにして統合されて細胞運命を制御しているのか明らかにされていない。*C. elegans* の vulva (陰門) の形成は Ras と Notch のシグナル経路によって制御されている。我々は、転写 Mediator 複合体の構成因子 LET-19 と DPY-22 が vulva の誘導において Notch シグナルの下流で機能していることを発見した。また SUR-2 と呼ばれる別の Mediator 複合体の構成因子は、やはり vulva 形成において、Ras の下流に働いていることが知られているので、Mediator 複合体は、Ras と Notch のシグナル経路を統合し、vulva の形成に必要な 3 つの細胞運命を制御していると考えられる。現在どのようにしてシグナルを統合するのか解析している。

*1 ジュニア・リサーチ・アソシエイト、*2 基礎科学特別研究員

In animal development, a single cell (a fertilized egg) produces a variety of cell types. How are differences in cell fates generated? We are focusing on asymmetric cell division that generates daughter cells with distinct cell fates. To study asymmetric cell division, we use the nematode *C. elegans* that is best suited to analyze cell lineages. We have identified a number of mutants defective in asymmetric cell division. Through analyses of the mutants, we have found that polarities of mother cells are regulated by Wnt signaling, and that asymmetric cell fates are determined transcriptionally by the SWI/SNF complex. We will further analyze these mutants to clarify the mechanism for asymmetric cell division.

Research Subjects

1. Identification of mutants defective in asymmetric cell

division

2. Analysis of regulation of cell polarity by WNT
3. Analysis of regulation of asymmetric cell division by MEIS/PBX/HOX
4. Roles of the SWI/SNF complex in asymmetric cell division
5. Analyses of genes that are involved in regulation of microtubules
6. Analyses of mutants that have excess gonadal arms
7. Roles of the transcriptional Mediator complex in asymmetric cell division
8. Visualization of cell lineages using a novel fluorescent protein Kaede
9. Studies of the integration of signaling pathways by the transcriptional Mediator complex

Staff

Team Leader

Dr. Hitoshi SAWA

Research Scientists

Dr. Masaki FUJITA

Dr. Masahiro UCHIDA

Dr. Yukimasa SHIBATA

Special Postdoctoral Researchers

Dr. Yukinobu ARATA

Dr. Kumiko OISHI

Technical Staff

Ms. Hisako TAKESHITA

Ms. Noriko SASAKAWA

Assistants

Ms. Tomoko NAKASHIMA

Visiting Members

Mr. Kota MIZUMOTO (Grad. Sch. Sci. Technol., Kobe Univ.)