

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19207017

研究課題名(和文) 非対称細胞分裂を制御する新規Wntシグナル伝達機構の研究

研究課題名(英文) Study of novel mechanisms of Wnt signaling regulating asymmetric cell division

研究代表者

澤 斉 (Sawa Hitoshi)

独立行政法人理化学研究所・細胞運命研究チーム・チームリーダー

研究者番号：80222024

研究代表者の専門分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：非対称分裂、細胞極性、Wnt、 β カテニン、*C. elegans*、微小管

1. 研究計画の概要

非対称細胞分裂は細胞の多様性を作り出す基本的機構である。線虫 *C. elegans* においては非対称分裂が β カテニンを介した Wnt シグナル伝達によって制御されている。細部分裂の際、 β カテニンや APC などのシグナル分子が細胞表層に非対称に局在し、分裂の終期に β カテニン自身の非対称な核局在を制御している。しかし、その詳細な機構は不明である。この機構を解明するために、微小管に着目し、その役割を調べる。また、この機構に関与する新規遺伝子を同定するため、非対称分裂に異常のある変異体を単離し、原因遺伝子をクローニングする。

2. 研究の進捗状況

(1) 初期胚の EMS 割球の非対称分裂時に微小管を阻害したところ β カテニンの核局在が対称になり、微小管が関与していることが明らかになった。分裂時の微小管の動態を観察したところ、星状微小管の数が前後で非対称となり、前側で多いことを発見した。この非対称性は Wnt、 β カテニン、APC の変異体で消失し、前側の細胞表層に局在する APC によって制御されていることが強く示唆された。この非対称性と β カテニンの核局在との関係を明らかにするため、レーザー照射による微小管の操作を行った。後極の微小管をレーザーで壊し、微小管の非対称性を増強させると β カテニンの非対称性も増強され、反対に、前極にレーザー照射を行うと β カテニンの非対称性が失われた。さらに微小管の非対称性が失われる Wnt の変異体において、レーザー照射により微小管の非対称性を人為的に作り出すと、 β カテニンによって制御される TCF の非対称局

在が回復した。この結果、Wnt は微小管の非対称性を介して β カテニンの核局在を制御していることが明らかになった。

(2) 特定の細胞(T細胞)の非対称分裂が異常になる変異体をスクリーニングし、50以上の遺伝子の変異体を同定した。さらにこれらの変異体で、 β カテニンの局在を調べ、10種類の変異体で局在が異常になっており、これらの遺伝子が非対称分裂を制御する新規 Wnt 経路に関与していることが示された。また、表皮幹細胞の非対称分裂に関与する遺伝子を同定するためゲノムワイドな RNAi スクリーニングを行い、幹細胞の数や位置に異常をもたらす数多くの遺伝子を同定した。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している

微小管の関与に関しては予想以上に研究が進展し、 β カテニンの非対称な核局在機構を明らかにすることができた。スクリーニングに関しては原因遺伝子のクローニングに至っておらず、今後の進展が望まれる。

4. 今後の研究の推進方策

微小管の働きを解明するため、微小管やキネシンと β カテニンや APC との生化学的な結合を調べる。 β カテニンの核局在に異常を示す新規変異体の原因遺伝子を変異体の全ゲノム配列を決定することにより決定する。RNAi スクリーニングで得られた遺伝子に関しては RNAi 個体の表現形を詳細に観察し、新規 Wnt 経路における役割を明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

①杉岡賢史、澤齋、Regulation of asymmetric positioning of nuclei by Wnt and Src signaling and its roles in POP-1/TCF nuclear asymmetry in *C. elegans*, *Genes to Cells*, 15, 397-407 2010、査読有

②柴田幸政、竹下久子、笹川典子、澤齋 Double bromodomain protein BET-1 and MYST HATs establish and maintain stable cell fates in *C. elegans*. *Development*, 137, 1045-1053, 2010. 査読有

③澤齋 Specification of neurons through asymmetric cell divisions. *Curr Opin in Neurobiol* 20, 44-49, 2010. 査読有

④ Zinovyeva AY, 山本優子, 澤齋, *Forrester WC. Complex network of Wnt signaling regulates neuronal migrations

during *C. elegans* development. *Genetics* 179, 1357-1371, 2008. 査読有

〔学会発表〕(計2件)

①澤齋、Wntによる非対称分裂制御機構、日本生化学会年会 2009年10月24日 神戸

〔図書〕(計0件)

なし

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

なし

〔その他〕

ホームページ

<http://www.cdb.riken.jp/cfd/HP6/index.html>