

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2007～2010

課題番号：19770195

研究課題名（和文） ウニ幼生の左右非対称性確立機構に関する研究

研究課題名（英文） Study of mechanisms of establishment of the left-right asymmetry of sea urchin larvae

研究代表者

北沢 千里 (KITAZAWA CHISATO)

山口大学・教育学部・准教授

研究者番号：30403637

研究分野：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：発生・分化，進化，棘皮動物，左右性

### 1. 研究計画の概要

本研究では、棘皮動物のウニの幼生が、変態が近づくにつれ、左右対称から左右非対称に成体形質を構築していく現象に注目し、幼生体内において、どのように左右非対称性が確立していくのかについて、主に実験発生学的手法を用いて、以下の（1）～（6）の観点から、複数種のウニ類を用いて明らかにしていくことを目的としている。（1）幼生の左右非対称性確立に対する割球の影響を、割球除去実験により解析する、（2）ウニ幼生の左右非対称性の確立に影響をもたらすことで知られている既知の薬剤の山口県沿岸で採集可能なウニに対する影響を網羅的に解析する、（3）上記のウニの種を用いて、左右非対称性確立機構に関与することで知られている *nodal* 遺伝子の単離を行う、（4）*nodal* 遺伝子の時間的・空間的発現パターンに関する種の多様性について解析する、（5）*nodal* 遺伝子の翻訳阻害の影響を調べることで、*nodal* 遺伝子の機能の多様性について解析する、及び（6）ウニの系統間における左右非対称性確立機構について考察を行う。

### 2. 研究の進捗状況

これまでの研究代表者の研究により、ウニ幼生の左右非対称性の確立には、16細胞期に形成される小割球の子孫細胞が細胞間相互作用を介して影響するが、種により作用する程度が異なることが、数種のウニを用いて明らかにされてきた。本研究において、新たにサンショウウニについて調べられたところ、本種の小割球の能力は中程度であることが明らかとなった。また、他の割球による左右

非対称性決定への影響の可能性について調べたが、ほとんどの幼生が正常に成体原基を形成した。これらのことより、本種では16細胞期以前に成体原基の形成方向が決定している可能性が考えられた。そのため、16細胞期以前の2あるいは4細胞期胚に対して割球分離を行ったところ、多くの個体で成体原基の形成方向は攪乱された。一方、多種のウニで左右非対称性の確立に関与することで知られている  $H^+/K^+$ -ATP アーゼの阻害は、他種と同様に両側に成体原基を形成する個体を増加させたことから、サンショウウニでは、左右非対称性確立に対する割球の影響は初期卵割期に作用し、これとは独立して、細胞内へのイオン流入も左右非対称性確立に影響をもたらしていると考えられた。更に、他種で左右非対称性の確立に関与していることで知られる *Nodal* に注目し、その阻害剤を用いてサンショウウニの様々な時期の胚に処理を行った。初期胞胚期以降に一定時間継続処理を行ったところ、他種と同様に幼生の口は分化せず、サンショウウニにおいても *Nodal* の形態形成への関与は認められた。次に、間充織胞胚期からの処理では、幼生腕の伸長に影響が見られ、片側の腕のみが伸長し、新たな左右非対称の形態の特徴が得られた。更に、原腸胚期からプリズム幼生期から継続処理を行ったところ、両側に成体原基が形成する個体が増加した。このことから、サンショウウニにおいても、*Nodal* が左右非対称に成体原基を形成する際に機能することが考えられた。次に、サンショウウニにおける *nodal* 遺伝子の単離を試みるため、まずサンショウウニの胚から cDNA を作成した。

加えて、他のサンショウウニ科のウニであ

るコシダカウニ、ハリサンショウウニ及びキタサンショウウニを採集することができ、これらのウニの成体原基形成過程を観察したところ、基本的にサンショウウニと同様の成体原基形成を行うことが確認された。また、これらのウニの16細胞期における小割球の成体原基形成方向への影響を調べるために、16細胞期の小割球除去実験を行い、その後の発生過程を追跡したが、4-6腕幼生期までは発生したものの、成体原基を形成する時期までは至らなかったことから、今後、実験を継続し、サンショウウニ科において小割球の左右非対称性の確立への影響する程度が全体的に低い特徴があるのか明らかにしていく必要がある。

### 3. 現在までの達成度

③やや遅れている。

(理由)

平成21年度に所属学部の建物改修工事が約1年間実施され、研究空間が非常に限られた上に、移転前後に2回に及ぶ引っ越しにより、研究室の立ち上げに時間が取られた。同期間中は、生物の飼育環境は十分整備できず、必要最低限の材料を維持することさえ困難であった。分子生物学的実験を行う実験室環境も無く、遺伝子実験はほとんど実施することができなかった。しかしながら、限られた研究環境の中で、複数種の発生過程における左右非対称性の決定について観察を行い、結果が得られている。

### 4. 今後の研究の推進方策

学部の改修工事も終了し、現在、実験環境も徐々に確立しつつある。また、材料の確保に備えて、野外からの材料供給に加え、研究室内で人工受精により得られた個体を大量飼育し、成熟させることも行っている。

### 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15件)

- ① Kitazawa et al. Morphogenesis during early development in four Temnopleuridae sea urchins. *Information*, 13, 2010, in press, 査読有り.
- ② 北沢・小林. 秋穂沿岸を眺めてみる～ウニ類の分布調査から～. *山口大学環境保全*, 12-14, 2009, 査読無し.
- ③ Kitazawa et al. Comparison of the early development with Temnopleuridae sea urchins. *Proceedings of the fifth international conference on information.*, 435-438, 2009, 査読有り.
- ④ Kitazawa et al. Novel morphological traits in the early developmental

stages of *Temnopleurus toreumaticus.*, *Biol. Bull.*, 217, 2215-221, 009, 査読有り.

- ⑤ 北沢. サンショウウニとヨツアナカシパン. *山口生物*, 30, 1-1, 2008, 査読無し.
- ⑥ Kitazawa et al. Distribution and habitat preferences of sea urchin species in Shirikawa Bay, Yamaguchi, during the period from 2005 to 2007. *山口大学教育学部研究論叢*, 57, 95-105, 2007, 査読無し.
- ⑦ Ettensohn, Kitazawa et al. Gene regulatory networks and developmental plasticity in the early sea urchin embryo: alternative development of the skeletogenic gene regulatory network. *Development*, 134, 3077-3087, 2007, 査読有り.
- ⑧ Kitazawa et al. Micromere-derived signal regulates larval left-right polarity during sea urchin development. *J. E. Z.*, 307A, 249-262, 2007, 査読有り.

[学会発表] (計20件)

- ① Kitazawa et al. Comparison of the early development with Temnopleuridae sea urchins. The fifth international conference on information. 2009年11月9日, 京都大学.
- ② 北沢ら. サンショウウニの発生初期における2つの皺について, 日本動物学会第80回大会, 2009年9月17日, 静岡県コンベンションアーツセンターグランシップ.
- ③ 北沢ら. サンショウウニにおける皺卵形成, 2009年5月16日, 生物系三学会中国四国支部大会(第61回日本動物学会中国四国支部大会), 高知大学.
- ④ 北沢ら. 正形類ウニ2種における幼生の成体原基形成方向の左右極性決定機構に関する研究, 日本動物学会第79回大会, 2008年9月5日, 福岡大学.
- ⑤ 北沢ら. サンショウウニにおける割球の左右極性決定能に関する研究, 2008年5月17日, 生物系三学会中国四国支部大会(第60回日本動物学会中国四国支部大会), 広島大学.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)
- 取得状況 (計0件)

[その他] なし