

平成 20 年 6 月 1 日現在

研究種目：若手研究（スタートアップ）

研究期間：2007～2008

課題番号：19870007

研究課題名（和文） アフリカツメガエル卵の表層と内層の違いについての研究

研究課題名（英文） Analysis of superficial and deep layer in *Xenopus* embryo

研究代表者

氏名（アルファベット）高橋 秀治（TAKAHASHI SHUJI）

所属機関・所属部局名・職名 東京大学・大学院総合文化研究科・特任准教授

研究者番号 90447318

研究成果の概要：

DNA アレイを用いて初期胞胚において遺伝子発現の表層と内層の発現レベルの異なる遺伝子を検出した。この結果、380個の遺伝子が表層に多く発現していることが示唆された。これらの遺伝子のうち、外層と内層間で差が大きかった100個の遺伝子をホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法を用いて解析した。さらに初期胞胚の内胚葉の表層と内層において発現レベルの異なる100個の遺伝子を特定した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,360,000	0	1,360,000
2008年度	1,350,000	405,000	1,755,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,710,000	405,000	3,115,000

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： Xnr2・表層・内層・アフリカツメガエル・*Xenopus*

1. 研究開始当初の背景

卵（胚）の表層と内層という問題はこれまでの発生生物学上、いくつかの研究が行われてきてはいるが、分子生物学的な解析が全くできていなかった。

2. 研究の目的

本研究は表層と内層の反応性を生み出す分子基盤を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

まず、初期胚の表層と内層の細胞運命を明らかにする。次にこの二つの細胞群を分離する

方法を開発し、DNA アレイにより表層特異的に発現する遺伝子を探索する。候補遺伝子をホールマウント in situ ハイブリダイゼーションにより特定する。また、内胚葉表層特異的遺伝子である、Xnr2 promoter をクロニングし、表層特異的エンハンサーを探索する。さらにDNA アレイこの内胚葉の表層と内層についても特異的遺伝子を探索する。

4. 研究成果

(1) 研究計画を立てた当時、初期胚の表層と内層を精度高く分離することは困難であったが、分離に用いる培養液を改良することでこれを克服した。

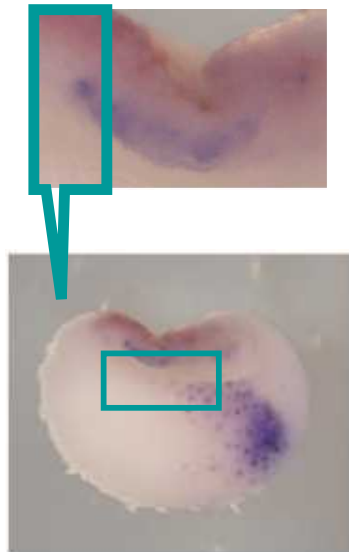


図1
内層に発現する Cerberus 遺伝子は外胚葉に異所的に誘導して、発現させた場合でも内層に発現する。

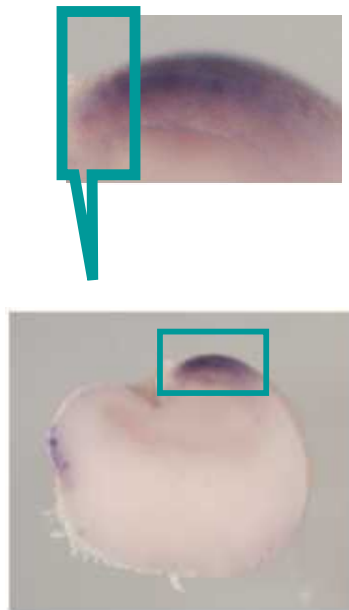


図2
外層に発現する Xnr2 遺伝子は外胚葉に異所的に誘導して、発現させた場合でも外層に発現する。

(2) これにより分離した表層と内層の細胞を用いて DNA アレイを行い、初期胞胚において発現レベルの異なる遺伝子を検出した。この結果、380個の遺伝子が表層に多く発現していることが示唆された。これらの遺伝子のうち、表層と内層間で差が大きかった100個の遺伝子をホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法を用いて解析した。これらの遺伝子の中にはマターナルに存在し、細胞の運命や、反応性を決めるような遺

伝子が存在すると考えられる。



図3
スクリーニングの結果、得られた遺伝子の外層特異的発現の例(3種類)。外胚葉特異的発現が初期原腸胚(左)、初期神経胚の両方で確認された。

(3) 内胚葉表層特異的遺伝子である、Xnr2 promoter をクローニングした。トランスジェニックの手法を用いて、表層特異的エンハンサーを探索したが、プロモーターの転写活性が弱く解析が困難であった。

(4) さらに初期胞胚の内胚葉の表層と内層において発現レベルの異なる100個の遺伝子を特定した。この中にはベスト病原因遺伝子であるベストロフィン遺伝子(xBest2)が含まれており、解析の結果、内胚葉表層特異的遺伝子であることが明らかになった。そこで Best family に属する遺伝子 Best1 ~ Best4 をクローニングし、初期発生における発現、機能解析を行い、国際誌に報告した。本研究により、表層と内層の反応性の違いを生み出すメカニズムを解析するための分子を多く発見できた。今後はこれらの相互作用やメカニズム自体を明らかにしたい。

September 8th-12th, 2008, Leiwun,
Germany.

〔図書〕(計 2 件)

(1) 高橋 秀治 他
DVD「生命科学」 企画/制作 東京大学大
学院総合文化研究科生命科学構造化センタ
ー 2008年3月(分担)

(2) 高橋 秀治 他
「写真で見る生命科学」 企画/制作 東京
大学大学院総合文化研究科生命科学構造化
センター 2008年8月(分担)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究代表者

高橋 秀治 (TAKAHASHI SHUJI)

東京大学・大学院総合文化研究科・特任准教
授

研究者番号：90447318

(2)研究分担者

(3)連携研究者