



Title	オオヒメグモ体節形成をモデルとした遺伝子発現の波の動態制御機構の解明に向けたSingle-nucleus RNA sequencing解析
Author(s)	赤岩, 孝憲
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/105657
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (赤 岩 孝 憲)

論文題名

オオヒメグモ体節形成をモデルとした遺伝子発現の波の動態制御機構の
解明に向けたSingle-nucleus RNA sequencing解析

論文内容の要旨

動物の体には繰り返しの構造がよく見られる。節足動物は、体の前後軸に沿った繰り返しの外骨格（体節）を持つ。体節は、胚発生の過程で形成される遺伝子発現の縞パターンに基づいて作られ（体節形成）、その形成過程には節足動物の中でも多様性がある。体節形成の仕組みが最もよく研究されてきたショウジョウバエ（*Drosophila melanogaster*）では、多核性胞胚における転写因子の濃度勾配に従って胚全体でほとんど同時に縞パターンを形成する。その他の多くの節足動物では、細胞からなる場（細胞場）における遺伝子発現の波の動態による逐次的なパターン形成が見られる。節足動物の体節形成の多様性を理解する為には細胞場における縞パターン形成の仕組みを理解することが重要であるが、非ショウジョウバエの節足動物において、その解析手法は十分に整っておらず、パターン形成の仕組みも十分には理解されていない。

これまで、オオヒメグモ（*Parasteatoda tepidariorum*）のゲノムに基づいた研究から、細胞外シグナルによって制御される遺伝子発現の波の動態によって胚全体に縞パターンが作られることが明らかとされてきた。また、ショウジョウバエでは体節形成への関与が知られていない遺伝子がオオヒメグモ胚全体での波の動態制御に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。このことは、節足動物の体節形成の多様性を理解する上で、モデルとする動物のゲノムを利用した方法論の重要性を示している。

本研究では、オオヒメグモの体節形成に関わる遺伝子と前後軸に沿った発現パターンを網羅的に探索することを目的に、体節形成期（Stage 7）のオオヒメグモ胚にSingle-cell RNA-seq（ScRNA-seq）およびSingle-nucleus RNA-seq（SnRNA-seq）を適用した。ScRNA-seqの適用のために、酵素処理による細胞の単離方法を新たに確立した。得られたデータを解析した結果、ScRNA-seq、SnRNA-seqのいずれのデータにおいても、胚葉の違いを反映したUMAPプロットが得られた。また、SnRNA-seqのデータからは、実際の胚の外胚葉細胞の前後軸に沿った極性や、遺伝子発現の縞パターンを再構成できることを示した。そこで私は、SnRNA-seqのUMAPプロットを用いて、オオヒメグモゲノム上の全遺伝子に対する前後軸に沿った遺伝子発現プロファイルを取得し、軸に沿ってパターンを持つ遺伝子をプロファイルの数値に基づいて抽出する独自の手法を開発した。その結果、UMAP上での前後軸の再構成に必要なかつ十分な遺伝子セットとして213個の遺伝子が抽出できた。その中には、ショウジョウバエの体節形成関連遺伝子の他に、細胞外シグナル関連遺伝子、NCBIのデータベース上でuncharacterizedな遺伝子も含まれていた。また、胚盤期（Late Stage 5）のSnRNA-seqデータを用いて同様の解析を行うことで、本研究で開発した手法が他の発生ステージにも適用可能であることを確認できた。抽出された遺伝子セットについて、遺伝子発現プロファイルの微分値（傾き）を利用することで、遺伝子発現パターンの境界に基づいた解析を可能にした。

次に私は、体節形成過程におけるオオヒメグモ胚の細胞の状態変化を捉えることを目標に、SnRNA-seqの時系列データを取得した。胚盤期の終わりを開始点として2時間おきに、20時間にわたってサンプリングを行った。1つの卵嚢に含まれる卵の数とサンプルあたりに必要な卵の数を考慮して、3つのグループに分けてサンプリングを行った（Series_A、Series_B、Series_C）。取得したそれぞれのデータセットに対して、UMAPプロットの作製および前後軸に沿った遺伝子発現プロファイルの取得を行った結果、Series_A、Series_Bのデータセットにおいて、前後軸に沿って動的に変化する遺伝子発現パターンが捉えられることを示した。Series_Cのデータセットからは、UMAPプロット上で前後軸の極性がうまく再構成されなくなるタイミングがあることがわかった。

以上の結果は、オオヒメグモ胚を用いたSnRNA-seqによって、節足動物の体節形成における個々の細胞の状態の動的な変化をゲノムワイドに捉えられるデータリソースを提供できることを示す。本研究で確立された手法を足がかりとして、RNAiによる機能解析や数理モデルの構築によって、節足動物の細胞場における縞パターン形成の仕組みの解明につながることを期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (赤 岩 孝 憲)		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	招聘教授 小田 広樹
	副 査	教授 石谷 太
	副 査	教授 進藤 麻子
論文審査の結果の要旨 脊椎動物や節足動物は、からだの前後または頭尾の軸に沿って反復構造をもつ。この体構造の反復性は、胚発生において形成される遺伝子発現の縞パターンに基づくが、その空間周期性が形成される過程には同じ動物系統内でも多様性がある。とりわけ節足動物はその多様性が顕著であることから、その体節形成の分子遺伝学的研究は、動物系統を特徴づける形質の遺伝基盤がどのような進化的変遷を経てきたかの理解に貢献する。代表的な研究モデル種である昆虫類双翅目のショウジョウバエと新興モデル種の鋏角類オオヒメグモでは、体軸形成および体節形成の過程と仕組みにおいて、分子・細胞レベルで大きな違いがある。ショウジョウバエにはない、オオヒメグモの体節形成の特徴は、波として振る舞う動的な遺伝子発現に制御されていることである。この特徴は節足動物において祖先的である可能性があり、研究対象として注目される。しかし、ショウジョウバエにはない発生現象に対して研究基盤が未熟な動物を用いた分子研究がどのようにアプローチできるかは大きな課題となっている。 本学位論文は、オオヒメグモの体節形成期胚の Single-nucleus RNA シーケンシングによって得た、定量性のある数値データに基づいて、体軸に沿った遺伝子発現パターンが再現可能であることを示した。胚帯期（ステージ 7）のデータでは、外胚葉上に現れる体節に相当する反復パターンを再現した。これにより、ゲノム上のほぼ全ての遺伝子に対して体軸に沿った遺伝子発現パターンが予測できるようになった。また、UMAP 上に再現された体軸に沿った遺伝子発現パターンを一次元の数値プロファイルとして抽出する独自の手法を開発し、その数値プロファイルの解析からパターンを有する遺伝子の網羅的選抜やパターンに基づく遺伝子分類、発現領域境界の検出などを可能とした。また、単独サンプルの解析手法の開発に加え、パターン形成過程における細胞状態の動態を捉えることを目的として時系列データセットを取得し、同様の手法で解析を行い、その結果、オオヒメグモの体節形成に関わる遺伝子発現波を構成する遺伝子成分をゲノムワイドに同定できるデータリソースが構築された。 本研究は、節足動物の体節形成機構の進化および多様化の理解に向けてゲノムに基づく先駆的な研究アプローチを提案しただけでなく、具体的な研究発展を見通し、遺伝子機能解析や数理解析につながるデータリソースを生み出した。これらの研究成果は、発生生物学及び進化生物学の研究分野において高い価値を有する。 よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。		