



Title	nodal遺伝子の左右非対称な発現調節機構の解析
Author(s)	足立, 仁
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42497
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名	あ 足 立 ひとし 仁
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 5 9 7 4 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 13 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学 位 論 文 名	<i>nodal</i> 遺伝子の左右非対称な発現調節機構の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 近 藤 寿 人 (副査) 教 授 岡 田 雅 人 教 授 八 木 健

論 文 内 容 の 要 旨

nodal は分泌タンパク質をコードする transforming growth factor β (TGF- β) スーパーファミリーに属している。その機能は脊椎動物の種間を越えて保存されており、原腸陥入及び左右決定に関与していることが報告されている。*nodal* の node 及び側板中胚葉 (LPM) における転写調節領域の探索を手掛かりとして、原腸陥入及び左右決定機構の解析を行った。

まず、*nodal* のゲノム領域をマウス 8 日胚のファージ・ライブラリーからスクリーニングにより単離し、そのゲノム断片を *lacZ* レポーター遺伝子に直接結合させたコンストラクトを作成した。続いて、それらのコンストラクトをマイクロインジェクション法によりマウスの受精卵前核へ導入してトランスジェニックマウスを作製し、発生させ 8 日胚で回収した後、X-gal 染色法を用いて発現様式により *nodal* の転写調節領域を組織特異性及び時期特異性に注目して探索を行った。その結果、以下のような転写調節領域を同定した。

nodal は、マウス 8 日胚の形態的に左右対称な構造をとっている時期、左側の LPM で発現を呈する。LPM は体腔内臓器を形成する組織であり、その左側のみで発現を呈することは体腔内臓器の左右決定に関与していると考えられた。*nodal* の左右非対称な発現がどの領域で制御されているのか調べた結果、LPM 特異的エンハンサー (ASE) は第 1 イントロンに存在した。更に、同時期、同部位で発現を呈する *lefty2* の ASE の配列と比較すると、相同な転写因子結合モチーフが多数存在した。それらの転写因子結合モチーフ中から *nodal* 及び *lefty2* の ASE 活性に必須な 10 bp のコア配列を部位特定突然変異解析等から決定した。以上より、*nodal* 及び *lefty2* が LPM で同じ転写因子により発現調節を受けていると示唆された。

その後、コア配列に結合する因子として、転写因子 *FAST-2* が単離されていた。*FAST-2* は、カエルで *activin* のシグナルを伝達する転写因子として単離された *FAST-1* のマウスホモログである。*FAST-2* は、*FAST-1* 同様に TGF- β からのシグナルを伝達するものと示唆され、*nodal* 及び *lefty2* が発現している時期に *FAST-2* の発現も観察されている。また、レポーターアッセイ等の結果からも ASE の活性化に *FAST-2* が関与している有意なデータを得た。以上により、*FAST-2* は *nodal* 及び *lefty2* の発現調節に直接関与する重要な転写因子であると示唆された。

次に原腸陥入について、*nodal* 遺伝子の発現は、最初、5.5 日胚の外胚葉原基で観察され、その後、node が形成されるとその周囲に限局される。そして、8 日胚の node で右より左側が強い非対称な発現様式をとる。node 特異的エンハンサー (NDE) を同定することは、マウスの三胚葉の分化・誘導及び体軸形成の分子メカニズムを解明する

手掛かりになると考えられた。本実験結果より、NDE は、*nodal* の 5'側上流0.8kp (−9.5〜−8.7kp) に存在することが解った。

論文審査の結果の要旨

TGF β 関連因子の一つである Nodal は、発生途中の胚の左側に発現され、左右非対称な形態を誘導するシグナル因子である。本研究では、*nodal* 遺伝子の転写調節機構を解析することにより、この遺伝子が左右非対称に発現されるメカニズムを明らかにしようとした。Nodal 遺伝子の発現を制御するエンハンサーをトランスジェニック法により探索したところ、イントロン内に左側特異的発現を促すエンハンサー (ASE と略す) を見出した。このエンハンサーの活性に必須な塩基配列を決定し、そこに結合する因子をクローニングしたところ、FAST と呼ばれる転写因子であった。この転写因子は、Nodal 蛋白質のシグナルを伝達することが判った。すなわち ASE は、*nodal* 遺伝子の発現レベルを増強し、また発現場所を拡大していく際に必要なエンハンサーであることが明らかになった。

本研究は、左右非対称性が生じる機構を理解する上で重要な知見をもたらしており、学位に値すると考える。