

Title	Simultaneous knockdown of the group B1 sox genes in zebrafish embryos reveals their multifaceted roles from early embryonic patterning to neural development.
Author(s)	奥田, 雄一
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/49300
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 おく だ ゆう いち
奥 田 雄 一

博士の専攻分野の名称 博 士 (生命機能学)

学 位 記 番 号 第 2 2 1 7 6 号

学 位 授 与 年 月 日 平成 20 年 3 月 25 日

学 位 授 与 の 要 件 学位規則第 4 条第 1 項該当

生命機能研究科生命機能専攻

学 位 論 文 名 Simultaneous knockdown of the group B1 *sox* genes in zebrafish embryos reveals their multifaceted roles from early embryonic patterning to neural development.

(グループ B1 *sox* 遺伝子はゼブラフィッシュにおいて胚発生初期の形態形成や神経系の発生に必須である。)

論 文 審 査 委 員 (主査)

教 授 近藤 寿人

(副査)

教 授 河村 悟 教 授 山本 亘彦

論 文 内 容 の 要 旨

Group B1 *Sox* genes encode SRY-related transcription factors, which have a nearly identical DNA-binding HMG domain and share concerned structural domains outside it. These are thought to play important roles in multiple developmental processes including early cell lineage decision, neural development and sensory organ development. In zebrafish, I have identified six B1 *sox* genes, which include pan-vertebrate *sox1a/b*, *sox2*, and *sox3*, and also fish-specific *sox19a/b*. Among these genes, *sox19b* is maternally supplied. The expression of *sox19a* and *sox3* begins at approximately the 1,000-cell stage. *sox2* is then activated after the 30% epiboly stage. Their expression becomes confined to the future ectoderm by the shield stage. As development proceeds, their expression domains are localized to the future neuroectoderm with unique patterns. The transcripts of *sox1a* and *sox1b* are detectable only after the tail bud stage.

To investigate function of the group B1 *sox* genes during early development, we performed loss-of-function analysis on *sox2*, *sox3*, *sox19a* and *sox19b* by utilizing antisense morpholino oligonucleotides and found that they are required for multiple processes of early embryonic development. Single knockdowns, individual inhibitions of *sox2*, *sox3*, *sox19a* and *sox19b*, do not cause severe morphological abnormalities. In quadruple knockdown, simultaneous inhibition of all of the four *sox* genes, the embryos show remarkably severe defects. In the quadruple knockdown embryos, expression of non-neural marker genes is reduced, while expression of neuroectoderm marker genes is ventrally expanded. Consistently, we found that expression of *bmp2b* and *bmp7* is reduced, suggesting the BMP-dependent dorsoventral patterning is impaired. Additionally expression of *wnt11* and *wnt5b* is reduced in the quadruple knockdown embryos, which can account for a posteriorly located prechordal plate, a shorter and wider notochord and laterally expanded somatic mesoderm, indicative of impairment of the Wnt-dependent convergent extension movement. Furthermore, in the quadruple knockdown embryos, early neuroectoderm marker genes such as *otx2*, *gbx1* and *zic2b* are expressed, but most of the later

neural marker genes such as *krox20* and *ngn1* are not initiated, suggesting that the group B1 *sox* genes are essential for neural development to proceed from the initial step to the next.

論文審査の結果の要旨

申請者は、初期神経系の形成に中心的な役割を果たすと考えられている複数の group B1 *sox* 転写制御因子の機能を、ゼブラフィッシュ胚を用いて明らかにした。まず、ゼブラフィッシュゲノムを網羅的に探索し、group B1 *sox* は6つの遺伝子から成ることを明らかにした。各遺伝子の発現を種々の発生ステージで調べ、それらの時期特異性・部位特異性を詳細に解析した。

複数の遺伝子の活性を同時にノックダウンすることのできるゼブラフィッシュ胚の特徴を利用して、初期胚で発現される4つの *sox* 遺伝子 (*sox2*, *sox3*, *sox19a*, *sox19b*) について、anti-sense morpholino oligonucleotide を用いたノックダウンを、個別・及び種々の組み合わせで行った。その結果、全4遺伝子のノックダウンを行った時にはじめて、際立った発生異常を観察した。これらの結果から、group B1 *sox* 転写因子が共通した転写制御能をもち、機能的に補い合えることを結論した。

申請者はさらに、初期胚で全 group B1 *sox* 遺伝子をノックダウンした効果を詳細に分析して、(1)BMP シグナルを中心とした初期胚の異方性(背腹軸)の確立、(2)PCP 経路 Wnt シグナルを介した、神経外胚葉の convergent-extension 運動の制御、(3)神経外胚葉成立後の、神経組織への分化、これらの3つの過程に group B1 *sox* 遺伝子の制御機能がかかわることを示した。

以上の研究成果は、神経系原基の成立に関わる、重要な新知見をもたらしたものであり、学位に値するものと認める。