



じつきょう 理科資料

NO. 60

サイエンス・プラザ

ポストゲノム時代の発生生物学～発生システムの研究～

京都大学大学院理学研究科動物学教室 佐藤ゆたか

はじめに

システム生物学という言葉聞いたことがあるだろうか。生物をそれを構成する「個々の要素」に分解して理解することにとどまらず、「個々の要素」の集合体として理解しようとするものである。その概念自体は決して新しいものではないが、近年のゲノム研究を中心とする研究成果の蓄積によってようやく我々研究者の手の届くところのものとなった。20世紀後半の生物学は、個々の細胞を構成する分子、その組成あるいはそれらの生物学的機能といった情報を作り出すいわば要素還元的研究が主流であった。発生生物学で言えば、スーパーマンのオーガナイザーの発見に代表されるような個々の実験発生生物学的現象を分子レベルで説明しようという研究である。実際こうした研究は多くの成果を上げ、生命現象の一端を明らかにすることに成功した。しかし、発生をはじめすべての生物学的現象はそうした個々の事象の集

合としての調和の上に成り立っており、要素還元的な研究だけでは生物の本当の姿を知ることはできない。そうした意味で生物の研究も「個々の要素」の理解にとどまらず個々の要素の集合としての「システム」の理解へと展開していくのは当然である(図1)。

1995年のインフルエンザ菌(*Haemophilus influenzae*; 注1)を皮切りに現在までに数百の原核生物・真核生物のゲノム配列が決定された。そのことによってこれまで数日から数週間あるいは数ヶ月かかっていた遺伝子クローニングなどの分子生物学的実験をコンピュータを利用することで数時間～数日ですませることが可能になり、過去10年間「個々の要素」の研究が急速に進んだ。その点だけでもゲノム科学の現代生物学における功績は大きいですが、ゲノム配列の解読の意義はそれにとどまらない。最大の功績は生物の持つ遺伝子(あるいはタンパク質)の完全なカタログが利用可能になったということである。このカタログは

◆ も く じ ◆

サイエンス・プラザ		D-アミノ酸で測る老化の研究……………	11
ポストゲノム時代の発生生物学		授業実践	
～発生システムの研究～……………	1	発光現象の観測成功……………	14
トピックス		高校生へ私が選んだ1冊の本	
太陽系外地球型惑星の発見……………	8	99.9%は仮説……………	16

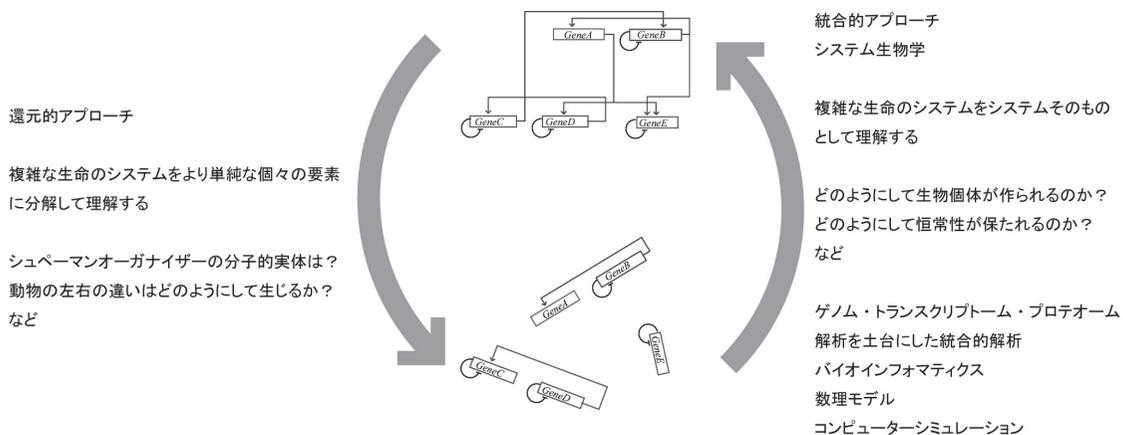


図1 システム生物学と従来の生物学

現在のところ、はなはだ不正確であり、カタログの中の遺伝子の大半は無意味な配列の羅列でその実体は何ら分かっていないのが現状である。しかしながら、マイクロアレイ（注2）など一度に大量の遺伝子の機能を調べる方法も数多く考案されており、近い将来にはこうした個々の遺伝子の機能は明らかになるはずである。

このようにして近い将来我々がある生物の持つ遺伝子の「完全なカタログ」を手にしたとき、我々はその生物の仕組みを完全に理解できるだろうか。答えは否である。個々の要素がどのようにして調和し、個体としての機能を発揮するのにはさらに高次の研究が必要である。たとえばすべて必要な部品を与えられても仕組みを知らなければどんな簡単な機械でも組み立てることができないことと同じである。しかしながら「完全なカタログ」作りは生物をシステムとして理解するための研究への第一歩であり、ゲノム解読はこの「完全なカタログ」作りを可能にする唯一の手段である。

動物の発生システム

動物の発生は受精卵という単一の細胞に始まって細胞分裂と共に分裂で生じた個々の細胞がお互いに異なるアイデンティティーを確立していく時間的・空間的に連続した四次元の現象である。さらに具体的かつ簡略化して言えば、発生の実体はその動物のゲノムにコードされるすべての遺伝子の時間的・空間的制御であって、そこから作られ

た多様なタンパク質がそれぞれの組織を構築したりあるいはタンパク質以外の物質の産生を行うのである。遺伝子の発現制御は転写因子と呼ばれる配列特異的 DNA 結合タンパク質によって担われている。発生の過程では一般に転写因子は別の転写因子遺伝子、時に細胞間相互作用に関わるシグナル伝達分子遺伝子を制御する。その結果発現した新しい転写因子は別の転写因子遺伝子を制御し、発現した新しいシグナル伝達分子は近傍の細胞の転写因子の働きを翻訳後修飾によって調節する。そのような一連の遺伝子の制御によって個々の細胞はやがてその細胞特異的な組み合わせの転写因子を発現するようになる。

この細胞種特異的な転写因子群は最終的にその細胞の働きに必要な遺伝子（たとえば筋肉細胞の筋繊維を構成するアクチン、ミオシンといった分子の遺伝子など）の発現を調節するのである。このように考えれば発生とはこの遺伝子発現の流れ（遺伝子ネットワーク）の中で理解されるべきであることがわかるだろう。

これまでの研究はこうした遺伝子ネットワークの一部を取り出してそのサブネットワークの機能を調べることに重点が置かれてきた。一方、発生をシステムとして理解するということはそうした個々のサブネットワークを統合し、さらに未解明の部分も含めて網羅的に解析を行って、すべての結果をひとつのネットワークとして再構築する作業に他ならない。

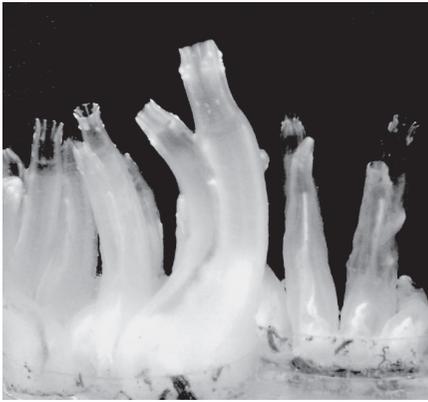


図2 ホヤの成体

ホヤの発生

さて次に私の専門であるホヤの発生生物学に話を移す。ホヤは東北地方などを中心に食用とされている動物であるが、近年の発生研究に使われるホヤは食用にされるマボヤとは異なる目に属するカタユレイボヤ (*Ciona intestinalis*) と呼ばれるホヤである場合が多い。ホヤの成体は固着性で我々脊椎動物とは似ても似つかない形態を持っている (図2)。しかし、その幼生はオタマジャクシ型で、図3に示すように脊椎動物を含む脊索動物に共通の基本的な体制を持っており、ナメクジウオ (頭索類) や脊椎動物と共に脊索動物門を形成している。図4に示すようにホヤは脊椎動物に

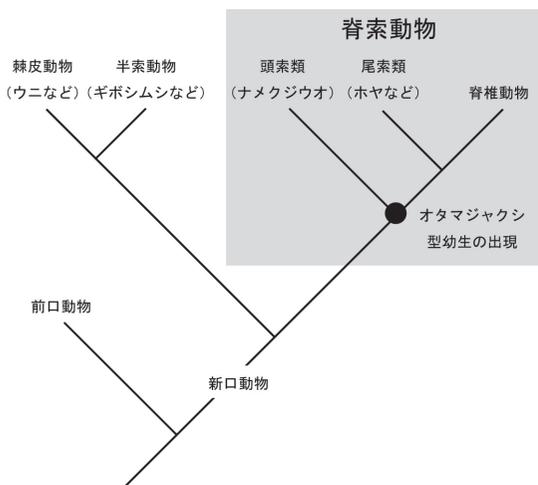


図4 動物の系統樹。オタマジャクシ型の幼生は脊索動物の出現と共に進化した。頭索動物の脊索動物門内での系統的位罫および半索動物の系統的位罫については議論があり、ここには1つの有力な説を紹介した。

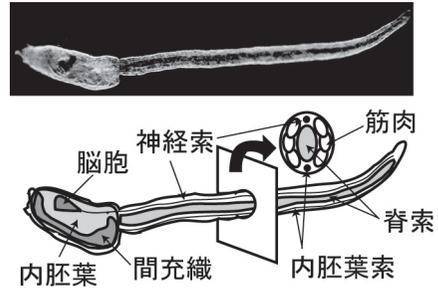


図3 ホヤのオタマジャクシ型幼生。基本的な脊索動物の体制を持っている。

もっとも近縁な無脊椎動物である。¹⁾

ホヤの発生研究は一世紀以上の歴史を持ち、もっとも古典的な発生研究の材料のひとつである。ホヤの発生はいわゆる「モザイク発生」であり、細胞分裂のパターンが厳密に決まっており、その細胞分裂のパターンとその後の細胞の発生運命はほぼ完全に明らかにされている。近年の分子レベルでの研究成果によってホヤ幼生組織分化に重要ないくつかの遺伝子が同定されている。

たとえば *Mesp* という遺伝子の機能をモルフォリノオリゴヌクレオチド (注3) によって阻害するとホヤ幼生に生じるはずの成体の心臓前駆細胞が分化しない (図5)²⁾。逆に *Mesp* が過剰に発現すると心臓が複数生じたり巨大化する。このことは *Mesp* 遺伝子が発現しなければ心臓は全く形成されず、逆に *Mesp* 遺伝子さえ発現すればその後の心臓分化が進んでいくことを示している。このような「元締め」的遺伝子はしばしば「マスタ

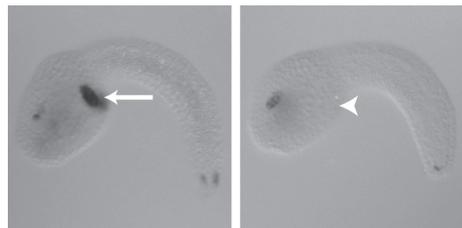


図5 *Mesp* 遺伝子の機能阻害実験。心臓前駆細胞に特異的に発現する *NoTrlc* 遺伝子をホールマウント in situ ハイブリダイゼーションによって心臓前駆細胞の分化の有無を調べた。対象胚 (左図) では心臓の前駆細胞が分化しているが (矢印)、実験胚では心臓の前駆細胞が失われている (矢じり)。同時に *NoTrlc* 遺伝子は *Mesp* の制御下にあることを示している。

ーコントロール遺伝子」と呼ばれる。他にも *Brachyury*, *Twist-like1*, *Lhx3* などがそれぞれ脊索, 間充織, 内胚葉のマスターコントロール遺伝子として知られている^{3) 4) 5)}。こうした「要素還元的」研究成果を踏まえ, それらを統合し, これらのマスターコントロール遺伝子はどのような遺伝子ネットワークのもとで特定の細胞に発現するのかをシステムのレベルで明らかにする試みが始まっている。繰り返しになるがこうしたシステムの解析のスタート地点はゲノムである。

我々を含む日米を中心とする国際共同研究チームは2002年末にカタユウレイボヤのゲノム配列を解読した。動物のゲノム解読としては線虫, ショウジョウバエ, ヒト, フグ, マウス, ハマダラカに次ぐ第七番目の成果であった。ホヤのゲノムは約160,000,000塩基対, そこにコードされる遺伝子はおよそ16,000であることが分かった⁶⁾。転写因子の多くはいくつかに分類される特定の構造のひとつを持つことが明らかにされており(注4), この構造を手がかりにホヤの転写因子遺伝子を網羅的に同定したところ, およそ900程度の遺伝子が存在することが明らかとなった⁷⁾。

これらの転写因子遺伝子やシグナル伝達分子遺伝子はそれ自身が転写調節をうけて特定の細胞に発現することは先述の通りである。このことは逆に胚発生の遺伝子調節ネットワークにおいてどの細胞でどの時期にどの遺伝子が働いているかはその遺伝子がどの時期にどの細胞で転写調節をうけて発現するかを調べればよいことを示している。そこで, これらの遺伝子群の胚発生における発現パターンをホールマウント in situ ハイブリダイゼーション法(注5)によって詳しく調べた。その結果, 先述のマスターコントロール遺伝子が発現する初期原腸胚期までに79個の転写因子遺伝子と25個のシグナル伝達分子遺伝子が発現することが明らかとなった。従ってこれらの遺伝子産物の機能を調べることでホヤ初期発生の転写調節遺伝子ネットワークが網羅的に理解できるはずである⁸⁾。

それぞれの遺伝子に特異的なモルフォリノオリ

ゴヌクレオチドを設計し, それを受精卵に顕微注入しその機能を阻害することで, これらの遺伝子の機能を調べた。顕微注入した胚は適当な発生段階まで培養して固定し, RNAを抽出して転写因子遺伝子やシグナル伝達分子遺伝子の発現量をリアルタイムRT-PCR法(注6)によって定量した。たとえばAという遺伝子の機能を阻害した場合にBという遺伝子の発現量(RNA量)が減少していればAは直接あるいは間接にBを活性化する役割があることが分かる。また, 必要に応じ顕微注入胚を用いた in situ ハイブリダイゼーションによってその結果を確認した⁹⁾。これらの結果を基にして明らかになったホヤの発生の分子メカニズムを次に述べる。

ホヤの初期発生システム

ホヤ胚において遺伝子の発現が始まるのは8~16細胞期である。先述の遺伝子発現プロファイル(それぞれの細胞が発現している転写因子遺伝子のレパートリー)の解析結果によれば, 16細胞期の各割球は5つに分類される。つまり動物極側前方(四割球), 動物側後方(四割球), 植物側前方(四割球), 植物側後方(二割球), 植物側最後方(二割球)の5つである(図6)。この時点でホヤ胚は5つの領域に大まかな特殊化が起こっていることが分かる。ではどのようにしてこの5つの領域に特異的な遺伝子発現パターンが実現されるのであろうか。すべてではないものの大部分はこれまでの知見に基づいて以下のようにして理解される。

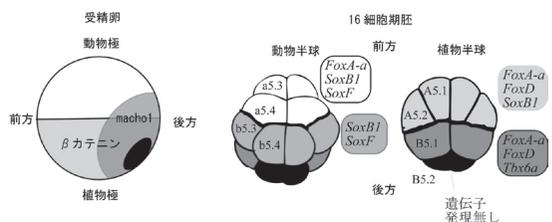


図6 母性因子による初期胚の遺伝子発現制御。2つの因子が後方および植物極側に局在しており, 卵割によって局在している転写因子が特定の割球に受け継がれる。その組み合わせによって16細胞期胚での転写が制御される。16細胞期の5つの領域で発現する代表的な転写因子を示してある。

での割球の配置から *Nodal* シグナルを受け取ることはないのでそのまま内胚葉への分化を続ける。

32細胞期で前方に位置する A6.2/A6.4 は 64細胞期において分裂して A7.3/A7.4 および A7.7/A7.8 となるがこのうち、A7.4 と A7.8 が神経索へと分化し、A7.3 と A7.7 が脊索へと分化する。A7.3/A7.7 は A7.2/A7.5 に接しているがこれらの細胞は先述のように分泌性のシグナル伝達遺伝子 *Fgf9/16/20* を発現している。したがって、A7.3/A7.7 はこの分泌性のシグナル伝達分子を受け取ることができるが A7.4/A7.8 は受け取ることができない。シグナルを受け取った細胞では *ets/pointed2* と呼ばれる転写因子のリン酸化を介してこの転写因子を活性化し、活性化された *ets/pointed2* はその細胞で内在的に発現している *ZicL* と共に働いて脊索のマスターコントロール遺伝子である *Brachyury* の転写をオンにする。それによって、この割球で脊索への分化プログラムが始まる。

以上の例はホヤ発生システムのごく一部を解説したにすぎないが、こうした一連の遺伝子の動きを統合的にとらえなければ分子レベルで発生を理解することは難しいことが分かったと思う。逆にこのようにして受精卵に始まる遺伝子のネットワークの中で動物の発生を系統的に理解することが可能になりつつあることも示している。これまでに明らかになっているホヤのネットワークを時間軸空間軸を無視して統合したものを図9に示す。遺伝子が相互に編み目のように作用し、大きなネットワークを作っていることが分かるはずである。

発生システムの完全な理解へ向けて

ホヤの発生における遺伝子ネットワークはまだ一端が分かっただけである。約 900 個のホヤのゲノムにコードされる転写因子をさらに網羅的に解析していく必要がある（脊椎動物では転写因子は 3,000 程度あるといわれている）。遺伝子の制御関係の理解はその骨組みを理解するという意味で発

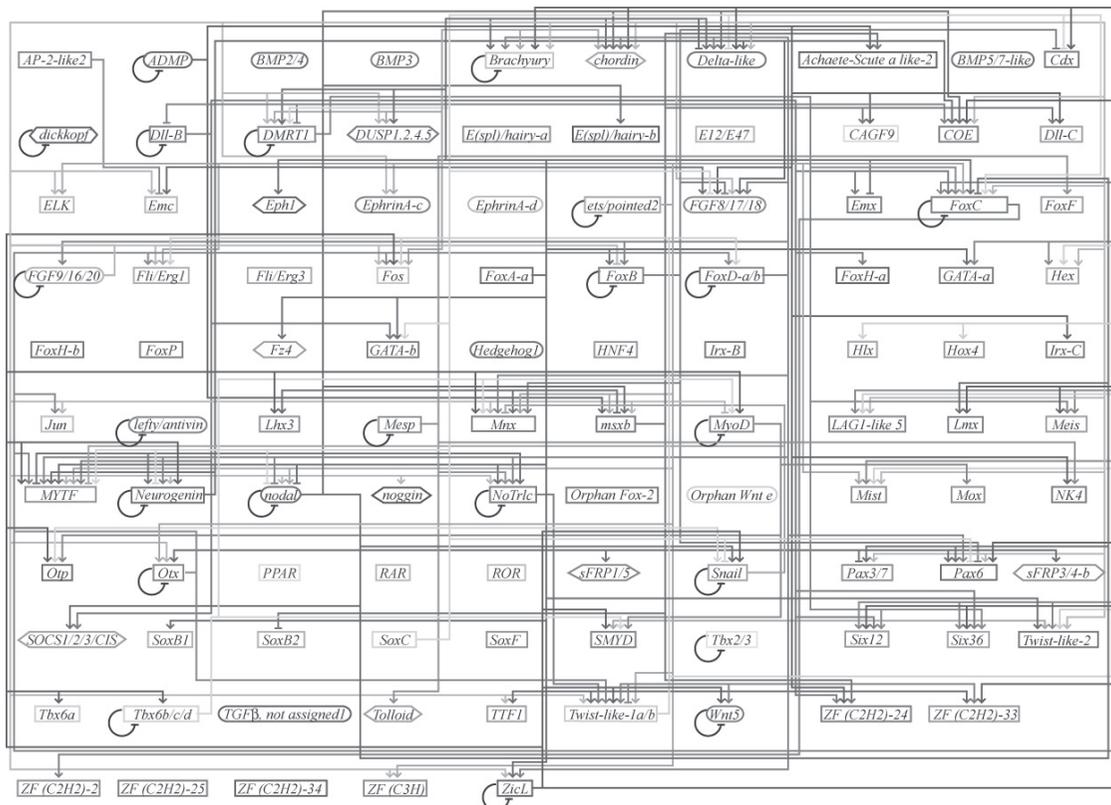


図9 ホヤ胚の遺伝子ネットワークの概略

生システム解析の最初の重要な一歩である。しかし、それを完全に理解するためには、数学的なモデル化やコンピュータシミュレーション等が必要になる。また、転写調節ネットワークはあくまで発生の骨組みであり、転写因子やシグナル伝達分子以外の遺伝子についても視野に入れて理解することがなければ完全な理解には届かない。こうしたシステムを視野に入れた解析は様々な生物学の分野で行われつつあり、生物学自体大きな転換期を迎えている。

注

注1：蛇足ながら、いわゆるインフルエンザはウイルスによって引き起こされる病気で、この菌とは無関係である。

注2：スライドグラスの上に数万種類の核酸を貼り付けて、核酸のハイブリダイゼーションを利用して遺伝子の発現を調べる技術。

注3：化学構造を変化させ安定化・無毒化した核酸。目的とする遺伝子に相補的な25塩基ほどの核酸を化学的に合成し、細胞に導入することで翻訳を阻害し、遺伝子機能を特異的に阻害する。

注4：代表的なモチーフとしてホメオボックス・bHLH (basic Helix-loop-helix) などがある。

注5：胚を切片などにするのではなくそのままの状態を用いて遺伝子が発現している細胞や組織を調べる技術。核酸のハイブリダイゼーションを利用する。

注6：PCRは微量のDNAを増幅する技術でその増幅のスピードはDNAの初期量に依存する。増幅の様子を蛍光物質を用いてリアルタイムに観察してDNAの初期量を調べる技術をリアルタイムPCRという。鋳型DNAがRNAからの逆転写反応によって準備される場合、リアルタイムRT-PCRと呼ばれる (RTはReverse-Transcription, 逆転写)。

注7： β カテニンが発生に伴って植物極側だけで活性型が作られるので、厳密には β カテニンを活性型に変える未知の分子であるが、図および本文では簡略化してある。

参考文献

- 1) 佐藤矩行編 ホヤの生物学 東京大学出版会 (1998)
- 2) Satou, Y., Imai, K. S. and Satoh, N. (2004). The ascidian *Mesb* gene specifies heart precursor cells. Development 131, 2533-2541.
- 3) Yasuo, H. and Satoh, N. (1998). Conservation of the developmental role of *Brachyury* in notochord formation in a urochordate, the ascidian *Halocynthia roretzi*. Dev. Biol. 200, 158-170.
- 4) Imai, K. S., Satoh, N. and Satou, Y. (2003). A Twist-like bHLH gene is a downstream factor of an endogenous FGF and determines mesenchymal fate in the ascidian embryos. Development 130, 4461-4472.
- 5) Satou, Y., Imai, K. S. and Satoh, N. (2001). Early embryonic expression of a LIM-homeobox gene *Cs-lhx3* is downstream of β -catenin and responsible for the endoderm differentiation in *Ciona savignyi* embryos. Development 128, 3559-3570.
- 6) Dehal, P., Satou, Y., Campbell, R. K. et al. (2002). The draft genome of *Ciona intestinalis*: insights into chordate and vertebrate origins. Science 298, 2157-2167.
- 7) Satou, Y. and Satoh, N. (2003). Genomewide surveys of developmentally relevant genes in *Ciona intestinalis*. Dev. Genes Evol. 213, 211-212.
- 8) Imai, K. S., Hino, K., Yagi, K., Satoh, N. and Satou, Y. (2004). Gene expression profiles of transcription factors and signaling molecules in the ascidian embryo: towards a comprehensive understanding of gene networks. Development 131, 4047-4058.
- 9) Imai, K. S., Levine, M., Satoh, N. and Satou, Y. (2006). Regulatory blueprint for a chordate embryo. Science 312, 1183-1187.
- 10) Imai, K., Takada, N., Satoh, N. and Satou, Y. (2000). β -catenin mediates the specification of endoderm cells in ascidian embryos. Development 127, 3009-3020.
- 11) Nishida H, Sawada K. (2001). macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis. Nature 409, 724-729.