

審査の結果の要旨

氏名 北口哲也

本研究は脊椎動物の左右軸決定に重要な役割を果たしていると考えられているzinc finger型の転写因子であるZic3の機能を明らかにするため、アフリカツメガエル胚にmRNAを導入する系にて、その遺伝子の左右非対称性の成立における役割の検討を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Zic3のmRNAをアフリカツメガエル胚の右側もしくは左側の割球に導入し、心臓、腸の配置への影響およびXnr1、pitx2の発現への影響を検討した。Zic3を右側に異所的に導入した場合、心臓、腸の配置が左右逆になり、かつ左側のみが発現することの知られているXnr1、pitx2が両側もしくは右側のみが発現するようになった。以上から、Zic3が”左側化”のカスケードに関わっており、Xnr1、pitx2の上流で働いていることが明らかになった。
2. Zic3タンパクのどの領域が左右軸形成に重要な役割を果たしているか検討するため、Zic3タンパクの欠失変異体を作成した(図2)。zincフィンガーを含む領域はwild typeと同様に右側割球に導入したときに左右軸を乱したが、zincフィンガーよりN末の領域は左側割球に導入したときに左右軸を乱した。したがって、左右非対称性の成立にはZic3タンパクの少なくとも二つの領域が関与することが明らかになった。
3. Zic3が発生のどの時期で左右軸形成に影響を与えているかを検討した。ホルモン(デキサメサゾン)添加によって転写因子の核移行を制御するシステムを用い、ホルモン誘導型のZic3を時期特異的に活性化し、左右軸形成に与える影響を検討した。Stage 10.5(初期原腸胚)以前にZic3タンパクを活性化したときは左右軸が乱れたが、Stage 12(後期原腸胚)以降に

活性化したときには影響がみられなかった。

4. Zic3の発現をin situ hybridizationにより詳細に検討したところ、Stage 10.5において左右軸形成に重要な役割を果たしていると考えられている背側中胚葉領域（オーガナイザー）に発現が確認できた。したがって、Stage 10.5の時期にZic3が左右非対称性の成立に関与していると考えられた。

5. ”左側”を決定する初期のシグナルであるVg1、activinとZic3との関係を検討した。アニマルキャップおよび胚にVg1、activinを過剰発現させたところZic3の発現が誘導された。また、Vg1、activinは母性因子として存在し、Zic3が発現する以前に存在していることからVg1、activinがZic3の上流で機能していると考えられた。

以上、本論文はアフリカツメガエルにおいてZic3が左右非対称性の成立に重要な役割を果たしていることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった脊椎動物の左右軸決定のメカニズムの解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。