

# 論文審査の結果の要旨

氏名 安岡 有理

本論文は三章構成でそれぞれの序論、方法、結果、考察、図表、および全体の要旨、序論、結論、文献からなっており、真正後生動物における原腸胚オーガナイザーの進化について、転写制御ネットワークに注目した進化発生学的な研究の結果を述べている。

真正後生動物の初期発生において、原腸胚オーガナイザーは初期原腸胚の原口唇に位置し、原腸形成から体軸形成にいたる基本的ボディプラン構築を担う。両生類の原腸胚オーガナイザーは特にシュペーマン・オーガナイザーと呼ばれ、移植によって二次胚を誘導することから、これまで多くの研究がなされ、オーガナイザー特異的遺伝子が多数同定された。またそれらの遺伝子について他の後生動物でも同定され解析されてきた。しかし、脊椎動物の原腸胚オーガナイザーにおける遺伝子制御ネットワークがどのように進化してきたかについて、それを実証的に示した研究はほとんどない。本研究はオーガナイザーの進化過程について、転写因子 *Lim1/Lhx1*、*Lim3/Lhx3*、*Otx2*、*Gsc* の機能および制御機構に注目し、種々の動物群の胚、遺伝子、ゲノムを用いて広く解析したものである。解析の結果、刺胞動物でも *Lim1* の制御軸の一部は保存されていること、*Otx2* が脊椎動物の頭部オーガナイザーにおいて、多数の頭部遺伝子と胴部遺伝子を並列に正と負にそれぞれ制御すること、ナメクジウオ *gsc* の発現制御機構は脊椎動物と大きく異なることなどを明らかにした。これはオーガナイザーの進化の分子メカニズムを初めて実証的に示したものであり、高く評価できる。詳細は以下の通りである。

第一章では、刺胞動物の *lim1* 遺伝子のクローニングと発現解析、および刺胞動物 *Lim1* タンパク質の脊椎動物胚および刺胞動物胚での詳細な機能解析が示されている。その結果、*lim1* 遺伝子が刺胞動物の原口唇領域に発現すること、*Lim1* が刺胞動物胚でオーガナイザー遺伝子として機能すること、一方で脊椎動物胚における *Lim1* による二次胚誘導能の活性は、左右相称動物の系統で進化したことが示めされた。さらに、*Lim1* の古代パラログ *Lim3* タンパク質も、新口動物の系統で進化し、脊椎動物胚での二次胚誘導能の活性を獲得していること、脊索動物の祖先種で *Lim3* が原口で発現するようになり、オーガナイザーの進化に寄与した可能性が示唆された。このような発現とタンパク質機能の両面から見た進化発生学解析結果は、全く新しい知見である。

第二章では、頭部オーガナイザーにおける *Lim1*、*Otx2*、*Gsc* の転写制御ネットワークの全容を明らかにするため、転写活性化補助因子 p300、転写抑制補助因子 TLE、ヒ

ストン修飾マーカ―の H3K4me1 と H3K27ac と共に、ツメガエル胚における ChIP-seq 解析について述べられている。この解析に加え、切り出したオーガナイザー領域や、機能阻害胚を用いた RNA-seq 解析による発現プロファイル解析も行うことで、オーガナイザー特異的転写因子が結合して機能するシス制御モジュール (CRM) の特徴が明らかになった。その特徴とは、Otx2 が Lim1 と協調的に特定の CRM (Lim1 結合モチーフをもつ) を介して多くの頭部遺伝子を活性化する一方で、Gsc と協調的に別の CRM (Otx2/Gsc 共通の結合モチーフをもつ) を介して多くの胴部遺伝子を抑制するというものである。注目すべきは、左右相称動物で共通して頭部で発現する Otx 遺伝子が、非常に多くの標的遺伝子を並列に正と負に制御していることであり、この制御原理が頭部進化の分子的基盤になっているという進化モデルが提唱された。

第三章では、祖先的な脊索動物と考えられるナメクジウオにおける *lim1*、*chordin*、*gsc* 遺伝子の制御機構の解析を基に、頭部オーガナイザーの進化について述べられている。特に、脊椎動物では頭部オーガナイザーに発現する *gsc* が、ナメクジウオでは反対に後方中胚葉に発現していることに注目している。ナメクジウオの *lim1*、*chordin*、*gsc* の CRM の解析の結果、*lim1*、*chordin* の CRM は脊椎動物と保存されているものの、*gsc* の CRM が保存されていないことを見出した。レポーター実験においてナメクジウオ *gsc* の CRM が、ツメガエル胚でナメクジウオでの発現パターンを再現したのは興味深い結果である。これらの結果を基に、Gsc が頭部オーガナイザーにコオプシオンすることで脊索前板が獲得され、脊椎動物型の頭部を形成するような遺伝子制御ネットワークが完成した、という新しい進化モデルが提案された。

本研究は原腸胚オーガナイザーの進化における、遺伝子制御ネットワークの保存性と多様化の両面を初めて実証的に示したものである。刺胞動物胚での遺伝子過剰発現による二次軸誘導や、脊椎動物初期胚を用いた転写因子に対する ChIP-seq、脊椎動物胚を用いた脊椎動物以外の動物の CRM 解析といった斬新な試みから、進化発生学分野に多くの新しい知見を示した点で高く評価できる。

なお、印刷公表した論文中の *Lim3* の解析の一部は共著者の小林正明博士、西駕秀俊博士によるものであり、現在投稿中の論文中のバイオインフォマティクス解析の一部は共著者の鈴木穰博士、菅野純夫博士らによるものであるが、本論文に記載されている解析は全て論文提出者が主体となって分析および検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。