

# 神経細胞の single-cell patterning を制御する遺伝子の探索

●上村 匡

京都大学大学院生命科学研究所

## ＜研究の目的と進め方＞

神経回路が正常に形成され、そして機能するためには、軸索（神経細胞の出力装置）と樹状突起（入力装置）のそれぞれが適切に伸長し、かつ分岐しなければならない。神経細胞のこの single-cell patterning の分子機構を in vivo で研究するモデル系として、ショウジョウバエ胚の dendritic arborization (da) neuron に着目した。da neuron は、一本の軸索に加えて、複雑に分岐する樹状突起を細胞体あたり複数本発達させる。我々がすでに同定した 7 回膜貫通型カドヘリン Flamingo (Fmi) は、da neuron の樹状突起の伸長調節において重要な働きをする。Fmi の神経系内での発現レベルを調べると、da neuron では強く、分岐のない短い樹状突起を 1 本だけ発達させる神経細胞では弱い傾向がある。そこで、da neuron に比較的限局して発現する他の遺伝子を分離すれば、その中に樹状突起のパターン形成に関わる新しい遺伝子が同定できるのではないかと予想した。

## ＜研究開始時の研究計画＞

遺伝子探索の方法として、エンハンサートラップ法を採用した。約 4,500 株のトラップ系統を探索し、20 以上の候補遺伝子を同定した。それぞれの遺伝子が期待する機能を担っているかどうかを、以下の方針に基づき解析する。

- 1) すでに突然変異が分離されている遺伝子については、緑色蛍光タンパク質をマーカーとする transgene と組み合わせ、da neuron の突起パターンを調べる。
- 2) 神経突起のパターンの著しい異常は、致死になることが予想された。そこでホモ接合体が致死となるトラップ系統については、ホモ接合体内での da neuron の突起パターンを調べる。
- 3) 突然変異が分離されていなかったり、新規の遺伝子については、2 本鎖 RNA 干渉 (Double-stranded RNA interference, RNAi) による遺伝子ノックダウンを試みる。

## ＜研究期間の成果＞

da neuron は樹状突起の分岐がより複雑な順番に、そして受容野のサイズがより大きな順番に、クラス I からクラス IV の 4 つのクラスに分類されている。da neuron は樹状突起の分岐がより複雑な順番に、そして受容野のサイズがより大きな順番に、クラス I からクラス IV の 4 つのクラスに分類されている。エンハンサートラップ法により分離した遺伝子の中から、クラス I に属する da neuron に選択的に発現する転写調節因子 Abrupt (Ab) を発見した。Ab を他のクラスのニューロンで異所発現させると、それらはクラス I のニューロンのように、分岐の複雑度が低く、かつ受容野の狭い樹状突起を発達させた。対照的に、ab 機能喪失変異により、クラス I のニューロンの突起は正常よりも複雑に分岐した。以上の結果より、Ab がクラス I に特徴的な突起パターンを発達させる役割を担うことが示された (文献 1 と 2)。また、クラス I da neuron の突起パターン形成に必要な 1 回膜貫通タンパク

質 Neuroglian (Nrg) も発見し、表皮—神経細胞—グリア細胞間の認識に重要な役割を果たす事を明らかにした (投稿準備中)。

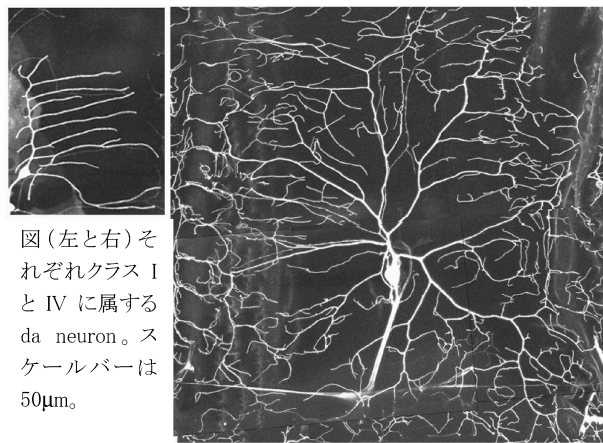


図 (左と右) それぞれクラス I と IV に属する da neuron。スケールバーは 50μm。

## ＜国内外での成果の位置づけ＞

国際的に反響をよび、6th IBRO WORLD CONGRESS OF NEUROSCIENCE (Prague) などに招待され発表した。

## ＜達成できなかったこと、予想外の困難、その理由＞

研究計画 3) に関して。2 本鎖 RNA を発現するトランスジェニックフライを作製し、そのトランスジェニックの発現によって効率良く da neuron において遺伝子の発現レベルをノックダウンできるかを検討した。試みた中で、ノックダウンを確認できた遺伝子は限られていた。

## ＜今後の課題＞

転写調節因子 Abrupt の標的遺伝子の分離に向けた実験を開始しているが、特定のクラスの da neuron の単離精製が技術的に困難であることがわかり、標的遺伝子の同定を目指す手法を検討する必要がある。

## ＜研究期間の全成果公表リスト＞

### 1) 論文

1. 12736346

Sugimura, K., Yamamoto, M., Niwa, R., Sato, D.H., Goto, S., Taniguchi, M., Hayashi, S., and Uemura, T. Distinct developmental modes and lesion-induced reactions of dendrites of two classes of Drosophila sensory neurons. J. Neuroscience 23, 3752-3760 (2003).

2. 15363392

Sugimura, K., Satoh, D., Estes, P., Crews, S., and Uemura, T. Development of morphological diversity of dendrites in Drosophila by the BTB-zinc finger protein Abrupt. Neuron, 43, 809-822 (2004).