

## ショウジョウバエゲノム機能解析により得られた器官改変を誘導する遺伝子群の解析

●倉田 祥一郎

東北大学 大学院 薬学研究所

### <研究の目的と進め方>

本研究の目的は、「ショウジョウバエのゲノム機能解析により得られた器官改変を誘導する遺伝子群について、その機能を解析することにより、ある特定の細胞集団で特定の発生プログラムが決定される機構を理解し、またその決定が転換するプロセスから発生プログラムの決定が細胞集団毎に維持される機構を理解する」ことにある。解析する遺伝子群は、細胞間の相互作用を担う Notch シグナルの活性化と共に働き、複眼を翅、肢、あるいは触角に改変する遺伝子として、ゲノム機能を利用した 1 万系統にも及ぶ網羅的探索により同定した遺伝子群である。このうち、特に、Winged eye (WGE) と名付けたクロマチン結合タンパク質をコードし、複眼を翅に改変する遺伝子と、AT フックを有するタンパク質をコードし、複眼を触角に改変する遺伝子を中心に解析を進める。これらの遺伝子は、いずれも前後軸、背腹軸を有するほぼ完全な構造を有する翅と触角を、それぞれ複眼の代わりに誘導する。

*wge* は、*eyeless* (*ey*) 遺伝子の複眼原基特異的エンハンサーの制御下に、複眼原基で過剰発現させると、前後軸、背腹軸を有するほぼ完全な翅を誘導する遺伝子として同定した (PNAS, 2005)。他の器官改変を誘導する遺伝子が、器官改変を誘導する際に、細胞間の情報伝達系である Notch シグナルを活性化させる必要があるのに対して、*wge* は複眼を翅にするのに Notch シグナルの活性化を必要としないという特徴を持つ。Notch シグナルを活性化すると同時に、*Antp* 遺伝子を発現させると、複眼を翅に改変できるが、この際 *wge* は Notch シグナルと *Antp* の下流で働き、翅発生プログラムの遂行を指示する *vestigial* (*vg*) の異所的な発現を誘導する。その一方で、*wge* は、複眼発生プログラムを指示している *ey* が誘導する *eyes absent* (*eya*) の発現を抑制する。これによって、複眼から翅へと発生プログラムの転換が起きるものと推察できる。さらに、WGE がクロマチンの特異的な部位に結合すること、そして、その結合部位の一部は、エピジェネティックな制御に関わるポリコム遺伝子群の 1 つである Posterior sex combs (PSC) が結合する部位に一致することが示された。これらの知見は、普遍的に発現している *wge* が、状況に依存して、エピジェネティックな制御により発生プログラムの決定に関わることを示唆している。

昨年度は、WGE がクロマチン上に特徴的に結合することから、WGE がエピジェネティックな制御を行うことを、ポリコム遺伝子群との遺伝学的な相互作用を調べることで確認した。すなわち、*wge* とポリコム遺伝子の *Psc* との間に遺伝学的な相互作用が見られるのかどうか、多くのポリコム遺伝子群変異体が示す sex combs の異所的な形成を指標に調べた。その結果、*Psc* 変異体の表現型が、*wge* の変異と組み合わせると、抑制されることが分かった。一方、*wge* 変異体の表現型は、*Psc* 変異と組み合わせ

ると、抑制されることが分かった。すなわち、*wge* と *Psc* はお互いに拮抗することが示され、遺伝学的に相互作用することがわかった。そこで、そのエピジェネティックな制御における WGE の標的遺伝子を明らかにするために、遺伝子発現チップ解析を行った。その結果、WGE により直接正に制御されている遺伝子の候補として 581 遺伝子を同定した。また、WGE により直接負に制御されている遺伝子の候補として 718 遺伝子を同定した。

### <2007 年度の研究の当初計画>

本年度は、ポリコム遺伝子群が作用するシスエレメントであるポリコム応答領域を用いたエピジェネティックな遺伝子発現制御系 (Fab7) を用いて、WGE がどのようなエピジェネティック制御を行うのか調べる。

さらに、AT フックを有するタンパク質をコードし、複眼を触角に改変する遺伝子 (AT フック遺伝子) の解析を進める。まず、AT フック遺伝子から発現する二つの転写産物を別々に複眼原基で過剰発現させると、複眼が触角に改変するのかどうか調べる。次に、AT フック遺伝子を複眼原基で過剰発現させ、複眼を触角に改変させた際に、複眼原基における *wingless* と *Distalless* の発現がどのように変化するのか調べる。このようにして明らかとなった *wingless* と *Distalless* の発現が、AT フック遺伝子により細胞自立的にもたらされるのか、それとも細胞非自立的においてもたらされるのかどうか、モザイク状に AT フック遺伝子を複眼原基で過剰発現させ調べる。AT フック遺伝子を複眼原基で過剰発現させると、複眼が触角に転換するが、それと同時に、複眼原基において、細胞死が誘導されることが明らかとなった。そこで、この細胞死と、複眼から触角への転換との関係を調べるために、AT フック遺伝子を複眼原基で過剰発現させる際に、P35 蛋白質を発現させ、細胞死を抑制した際に、複眼から触角への転換が誘導されるかどうかを調べる。

### <2007 年度の成果>

ポリコム応答領域を有する Fab7 の制御下に複眼の色が変化する系を用いて、WGE が、エピジェネティックな遺伝子発現制御に対して抑制状態の維持 (ポリコム様) に働くのか、促進的 (トリソックス様) に働くのか調べた。その結果、Fab7 の制御下にある複眼の色が、ポリコム遺伝子群のヘテロ変異体のバックグラウンドでは、より赤くなり、転写の抑制状態が維持されないのに対して、*wge* のヘテロ変異体のバックグラウンドでは、複眼の色に変化はなく、WGE は、転写抑制状態の維持には関わらないことが明らかとなった。このポリコム遺伝子群のヘテロ変異体のバックグラウンドで観察された転写抑制状態の解除は、ポリコム遺伝子群と拮抗的に働くトリソックス遺伝子群のヘテロ変異体のバックグラウンドでは見られない。これと同様に、ポリコム遺伝子である *Psc* のヘテロ変異体のバックグラウンドで観察された転写抑制状態の解除は、*wge* のヘテロ変異体のバックグラウンドで

は観察されなかった。この結果は、WGE が、エピジェネティックな遺伝子発現制御に対して、促進的（トリソラックス様）に働くことを示唆している。WGE が、トリソラックス様に働くことが示唆されたので、*wge* とポリコム遺伝子群、ならびにそれらと拮抗的に働くトリソラックス遺伝子群との遺伝学的相互作用を調べた。その結果、*wge* は、ポリコム遺伝子である *Pc*、ならびにトリソラックス遺伝子である *trx* に対して共に、拮抗的に働くことが分かった。これらの結果は、*wge* はエピジェネティックな遺伝子発現制御に関わるものの、これまでの、抑制状態の維持に関わるポリコム遺伝子群、あるいは活性化状態の維持に働くトリソラックス遺伝子群といった、既存の範疇に属さない新たな制御に関わる可能性を示唆している。

AT フック遺伝子から発現する二つの転写産物を別々に複眼原基で過剰発現させ、複眼が触角に改変するのかどうか調べたところ、いずれも触角が誘導され、二つの転写産物の機能に違いはないことが明らかとなった。次に、AT フック遺伝子を複眼原基で過剰発現させ、複眼を触角に改変させた際の、複眼原基における *wingless* と *Distalless* の発現を調べたところ、いずれも異所的に発現が誘導されることが分かった。そこで、これらの異所的な遺伝子発現誘導の細胞自立性を調べるために、モザイク解析を行った。その結果、AT フック遺伝子過剰発現させた細胞では、細胞死が誘導されることが明らかとなった。この細胞死と、複眼から触角への転換との関係を調べたところ、P35 蛋白質を発現させ細胞死を抑制すると、複眼から触角への転換が高頻度で誘導されることがわかった。この結果は、AT フック遺伝子の過剰発現により細胞死が誘導されたために、複眼から触角への転換が誘導されたのではないことを示している。

#### <国内外での成果の位置づけ>

今回、*wge* が、これまでの、抑制状態の維持に関わるポリコム遺伝子群、あるいは活性化状態の維持に働くトリソラックス遺伝子群といった、既存の範疇に属さない新たなエピジェネティック制御に関わる可能性が示唆された。このような報告はこれまでになく、本研究領域に新たな展開をもたらすものと期待できる。

#### <今後の課題>

AT フック遺伝子の機能解析

#### <成果公表リスト>

なし

ゲノム機能を利用した網羅的探索は、班員の首都大学相垣敏郎教授との共同研究であり、RNA-i 系統を使用した成果は、班員の遺伝学研究所上田龍教授との連携による。