

本件の取り扱いについては、下記の解禁時間以降でお願い申し上げます。
 TV・ラジオ・WEB … 日本時間 平成 29 年 2 月 3 日(金)19 時
 新聞 … 日本時間 平成 29 年 2 月 4 日(土)朝刊

平成 29 年 2 月 1 日

魚の浮き袋という進化上の発明のカギは、 「腹側」から「背側」への遺伝子スイッチの切り替えだった

■ 概要

情報システム研究機構国立遺伝学研究所 哺乳動物遺伝研究室 嵯峨井知子博士研究員と城石俊彦教授らのグループは、遺伝子のスイッチであるエンハンサー⁽¹⁾の進化、つまりアミノ酸配列にかかわらずゲノム DNA 塩基配列のわずかな変化が、陸生動物の肺から魚の浮き袋という大きな形態進化の背景にあったことを明らかにしました。

生物の形態進化には、アミノ酸配列の変化よりも、遺伝子の発現を調節するエンハンサーなどの変化のほうが深く関わっていると考えられていますが、そのような例が実際に示されたことはほとんどありませんでした。研究グループは、魚の浮き袋が原始的な肺から進化したという説に着目し、陸生動物と魚類のゲノム配列を比較解析した結果、形態形成に働く *Shh* 遺伝子を調節するエンハンサー配列が、肺を持つ陸生動物では体軸の腹側で活性を持つことを示しました。一方、浮き袋を持つ真骨魚類では、このエンハンサーが働かなくなっていて、別のエンハンサー配列が体軸の背側で活性を持つことを明らかにしました。これらのことから、肺から浮き袋への形態進化に伴ってエンハンサーの活性の腹側から背側へ転換が生じていたことがわかりました (図 1)。

ゲノムデータベースの充実やゲノム編集技術の発展などにより、任意の遺伝子の発現調節を自由に改変することが可能となっています。本研究のように、長い時間をかけて一度だけ起こった進化を実験によって検証する「実験進化学」は、これから急速に伸展することが期待されます。

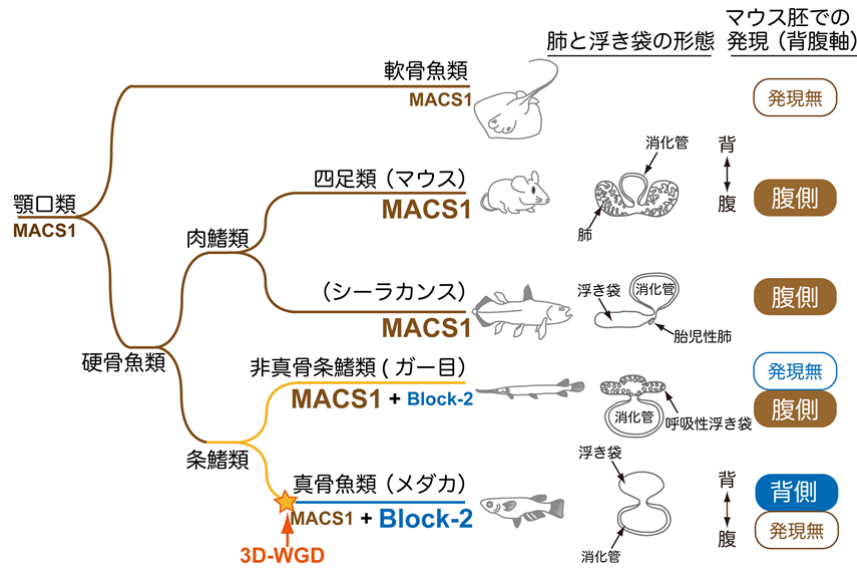


図1. 脊椎動物における二つの *Shh* エンハンサーの進化

祖先型 MACS1 は、軟骨魚類と硬骨魚類が分かれる以前に出現し、陸生動物、非真骨条鰭類で腹側喉頭に *Shh* 遺伝子発現を誘導する機能を獲得した。真骨魚類では、その配列が大きく壊れ、エンハンサー活性が失われたと考えられる。一方、非真骨条鰭類で出現した祖先型配列 (Block-2 と命名) が、真骨魚類の系譜で消化管の背側上皮に *Shh* 遺伝子発現を誘導する活性を獲得した。

■ 成果掲載誌

本研究成果は、平成 29 年 2 月 3 日 10 時(英国時間)に英国オンラインジャーナル Nature communications に掲載されます。

論文タイトル: Evolution of *Shh* endoderm enhancers during morphological transition from ventral lungs to dorsal gas bladder (腹側にある肺から背側にある浮き袋への形態移行に伴った *Shh* 遺伝子の内胚葉上皮エンハンサーの進化)

著者: Tomoko Sagai, Takanori Amano, Akiteru Maeno, Tetsuaki Kimura, Masatoshi Nakamoto, Yusuke Takehana, Kiyoshi Naruse, Norihiro Okada, Hiroshi Kiyonari, Toshihiko Shiroishi (嵯峨井知子、天野孝紀、前野哲輝、木村哲晃、中本正俊、竹花佑介、成瀬 清、岡田典弘、清成 寛、城石俊彦)

■ 研究の詳細

● 研究の背景

生物の形態進化には、アミノ酸をコードする翻訳配列の変化より、遺伝子発現を調節するエンハンサーなどの制御配列の変化のほうが深く関わっていると考えられています。翻訳配列の変化が複数の組織において重大な影響を与え得るのに対し、特定の組織だけで働くエンハンサーの変化は他の組織への影響なしに形態変化を生ずることが理由と考えられます。特に、遺伝子がこれまで発現のなかった部位で発現すると、新しい形態の獲得に繋がるため、新規発現パターンを誘導するエンハンサーの出現は、形態進化に重要な働きを持つと考えられてきました。しかし、そのような例が実際に示されたことは希でした。

陸生動物は、肺を使って空気呼吸をしますが、鰓呼吸する魚は、肺の代わりに浮力調整用の浮き袋を持っています。肺と浮き袋は、消化管からみて腹側から形成されるか背側から形成されるかの違いはありますが、解剖学的根拠および系統解析から、もともとは同じ構造から進化した相同器官であり、共通祖先の原始的な肺から浮袋が進化したと考えられています。しかしながら、どのようにして肺から浮袋への進化が成立したかはあまりわかっていませんでした。

● 本研究の成果

形態形成を司る *Shh* 遺伝子の転写開始点から上流 740 kb には、この遺伝子の内胚葉由来の上皮での発現を制御するエンハンサー(研究グループが MACS1 と命名)が存在します。このエンハンサー配列を失ったマウスを作成し、その形態を解析したところ、喉頭が正常に形成されず、出生直後に致死となることを見いだしました(図2)。喉頭は主に物を食べる時に肺への異物の誤入を防ぐために存在し、空気呼吸をする陸生動物が生きていくために欠かせない器官です。一方、肺の相同器官である浮き袋をもつ魚にとっては不要です。研究グループの以前の分子系統解析では、調べた四足類のすべてが、MACS1 の配列をよく保存していました。

今回の MACS1 欠失マウスの形態異常と以前の分子系統解析の結果から、MACS1 配列が陸生と水生の動物の進化過程に何らかの関与をした可能性を考え、本研究では、喉頭の有無、消化管の腹側に形成される肺や背側に形成される浮き袋の有無に注目しながら、系統樹上でさまざまな位置を占める多様な脊椎動物の分類群について、MACS1 配列の比較系統解析を行いました。さらに、マウスや真骨魚類のメダカを使ったトランスジェニックアッセイ⁽³⁾をおこない、レポーター遺伝子の発現活性を調べることで MACS1 の機能解析をおこないました。これらの研究の結果を図 1 に示します。浮き袋を持たないエイやサメなどの軟骨魚類は、エンハンサーとしての機能をもたない MACS1 配列をゲノムに持っていたことから、MACS1 配列の祖先型は軟骨魚類と硬骨魚類が分岐する以前に出現していたことがわかりました。また、全ての四足類、シーラカンス、進化上で真骨魚類から早期に分岐した非真骨条鰭類(チョウザメ、ガー目)は、MACS1 配列を持ち、さらに、マウス胚に導入すると腹側での発現活性を示しました。一方、真骨魚類であるメダカ、ウナギ、トゲウオにも、MACS1 の相

同配列の一部と似た配列が見つかりました。しかし、これらの配列をマウスへ導入しても、レポーター発現活性は示しませんでした。

真骨魚類は消化管の背側から浮き袋を形成します。真骨魚類では、消化管や浮き袋の上皮にも *Shh* を発現しているため、消化管上皮で *Shh* 発現を誘導するエンハンサー配列の存在が予想されます。候補となる配列を探したところ、真骨魚類は四足類、シーラカンスには見られない配列を持つことが判明しました。さらに、この配列をマウスやメダカに遺伝子導入すると、咽頭後部や消化管の背側上皮にレポーター遺伝子の発現を誘導することから、この配列は、予想していたエンハンサーであると考えられます。このエンハンサーの祖先型の配列は、非真骨条鰭類のガー目にも存在していました。一方、四足類、シーラカンスには見つかりません。また、ガー目の配列はマウスの中では活性を示しませんでした。したがって、この配列は、非真骨条鰭類と真骨魚類が分岐する以前に生じ、真骨魚類の系譜の中で新しくエンハンサー活性を獲得したと考えられます(図 1)。以上の結果は、肺から浮き袋への形態進化と二つのエンハンサーの進化が連動していることを示唆するものです。

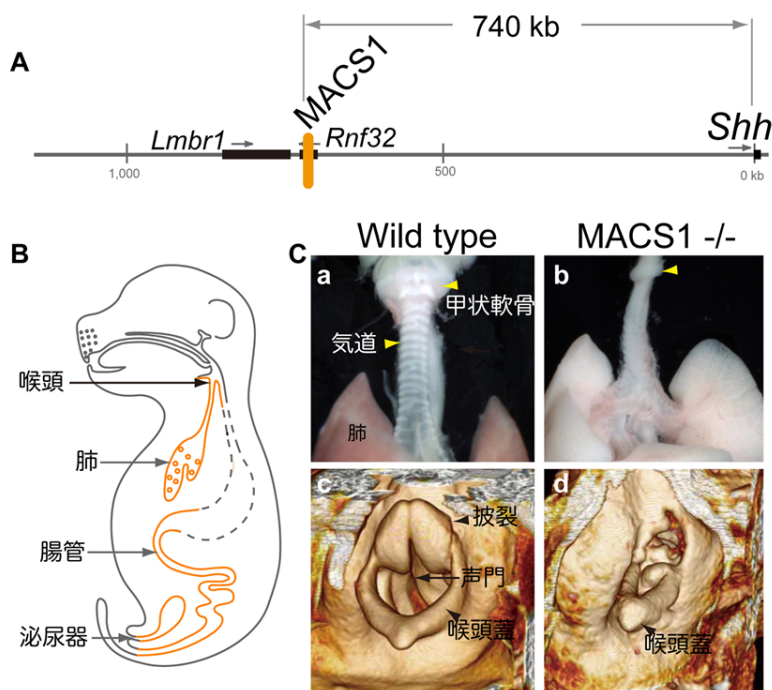


図 2. MACS1 は喉頭形成に欠かせない *Shh* エンハンサーである。

MACS1 は、*Shh* 遺伝子転写開始点から約 740 kb 上流にある *Rnf32* 遺伝子のイントロン 8 に位置する (A)。MACS1 は、喉頭、肺、下部消化管が将来発生する内胚葉由来の上皮(オレンジ色)に *Shh* 遺伝子発現を誘導する(B)。MACS1 欠損変異では、喉頭の形成不全が観察される(C)。特に、野生型マウスで形成される気道の上の甲状軟骨(C-a)が正常に形成されない(C-b)。X 線マイクロ CT でみると、披裂や声門などの喉頭を構成する構造が形成されない(C-d)。

● 今後の期待

形態進化に遺伝子スイッチである発現調節因子の配列の進化が重要であることを示す報告は、まだまだ少ないのが現状です。しかし、最近の広範な生物種を対象とするゲノムデータベースの充実や革命的とも言えるゲノム編集技術の出現とその改良法の開発などにより、任意の遺伝子の発現調節配列を自由に改変することが可能となった現在、本研究のような実験進化学の急速な伸展が期待されます。

■ 用語解説

(1) エンハンサー:

ゲノム上の塩基配列で、遺伝子調節タンパク質(転写因子)と結合することで遺伝子の発現を調節する、言わば、遺伝子スイッチの機能を持つ。

(2) MACS1:

エンハンサーの一つ、MACS1 の名前は Mammal(哺乳類)-Amphibian(両性類) Conserved Sequence(保存配列)に由来する(Sagai et al. Development 136, 1665, 2009)。当初は、四足類のみに存在すると考えられていた。

(3) トランスジェニックレポーターアッセイ:

レポーターと呼ばれる特定のタンパク質と任意のエンハンサーをつなげた DNA 配列を、マウスやメダカなどの胚に導入し、遺伝子組換え(トランスジェニック)体生物を作製する。その生物に組み込まれたレポーターの酵素活性や蛍光発光などを指標にして、連結してあるエンハンサーの働きをそれぞれの組織で可視化する手法。

(4) 全ゲノム重複:

ゲノム全体が倍加する現象で、種の多様化や分化に大きな影響を及ぼしたと考えられている。肉鰭類や非真骨条鰭類では、2 回の全ゲノム重複により現在のゲノムが構成されたが、真骨魚類の系譜では、さらにもう一度 3 回目の全ゲノム重複があったと考えられる。

■ 研究体制と支援

本研究は情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所哺乳動物遺伝研究室 嵯峨井知子、天野孝紀、前野哲輝、城石俊彦、自然科学研究機構基礎生物学研究所バイオリソース研究室 木村哲晃、中本正俊、竹花佑介、成瀬 清、理化学研究所ライフサイエンス技術基盤研究センター生体モデル開発ユニット 清成 寛、Department of Life Sciences, National Cheng Kung University 岡田典弘によって遂行されました。

本研究の一部は、科研費(基盤研究 A)「クロマチンループ構造変換による組織特異的 *Shh* 発現制御システム」、文部科学省・日本医療研究開発機構「ナショナルバイオリソースプロジェクト」の支援を受けておこなわれました。

■ 問い合わせ先

<研究に関すること>

- 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 哺乳動物遺伝研究室
教授 城石 俊彦(しろいし としひこ)

<報道担当>

- 情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 リサーチ・アドミニストレーター室
清野 浩明(せいの ひろあき)