

## これまでの歩みとこれから

武田洋幸

今年（2023年）4月に京都産業大学に着任し、新たにタンパク質動態研究所のメンバーの一員となりました。これからよろしくお願ひします。歳をとっていますが、新任の教員・研究者として自己紹介を兼ねて、研究者としての私のバックグラウンドと今後の研究について簡単に紹介します。

私は新潟県新潟市生まれ。小学校の頃は週末や長期の休みになると、田舎の母方の実家に連れていかれ、水田、川、山に囲まれた自然の中でさまざまな生き物と遊んだ記憶が今でも鮮明に残る。これが私と生き物の長い付き合いのスタートライン。高校時代はラグビーに明け暮れたが、週末は自転車で近くの川（信濃川）や海岸で釣りを楽しんだ。やがて釣った魚を飼育するようになり、気づいてみれば、人生の多く時間を（家庭でも職場でも）、魚と過ごすようになっていた。進路選択の時には、ムツゴロウこと畑正憲の生き方に刺激をうけ、理学部で動物学を専攻。思い返すとあまり悩まずに自然にこの道に入り込んだように感じている。

### 私の原点

私と発生学との出会いは、動物学教室での学部3年の実習。当時の教育カリキュラムはかなり牧歌的で、3-4年の2年間（卒研は無し）で生理学、内分泌学、組織学・発生学、放射線生物学、生化学の実習と2回の臨海実習（加えて自主臨海実習を夏季に1-2週間）をうけ、各分野のコアな考え方と手法の手解きを受ける。各実習は3-4か月間も続く。発生学実習では、ウズラまたはニワトリ胚の正常発生を、各発生段階の胚のパラフィン連続切片をひたすら作成し、立体的に、かつ時系列的に脊椎動物の発生を肌感覚をもって理解させられた。といっても、実習は時間に追われることもなく、いたって自由。各自が教員から種卵（有精卵）をもらって、好きな時にそれを孵卵器に入れ、興味ある発生段階を自分で選んで観察するだけ。中には孵化（孵卵21日）させた「ひよこ」をそのまま自宅に持ち帰って「にわとり」まで育てる人とか、大きくしてから骨格標本を作る人など、かなり自主性に任せられていた。今時こんな実習をやったら、学生、父兄そして教務担当の先生からお目玉をくらいそうすが、私にとってはこの実習が発生学への入り口、始まりであった。実習が始まってすぐに、刻々と姿、かたちを変えて発生・成長するニワトリ胚の虜となった。特に非常に早い時期（原腸形成期）の胚が1時間、2時間という時間の単位でダイナミックに変化することに興奮を覚えた。高校生物学で学んだシュペーマンとマンゴルドのオーガナイザーの実験（1920年代の有名なイモリの二次軸誘導の実験）が、目の前で発生するニワトリ胚の姿と重なっていた。以来、実験材料、研究対象そして研究環境が変わることがあっても、一貫して脊椎動物の発生に関わることができたのは、恩師（水野丈夫先生）を

はじめ多くの先輩、同僚、ラボメンバーのおかげとと思っている。今回京都産業大へ異動するにあたって、旧職場の書棚を整理している際に、上述の組織学・発生学実習のレポートを発見した。40年以上前に自分でスケッチした図の数々に、思わず見入ってしまい、何度も作業が中断した。私の研究者としての原点ここにあると改めて認識した。

### ゼブラフィッシュとメダカ

哺乳類（マウス・ラット）やニワトリを主な実験動物としていた私が研究対象として魚に出会ったのは、理化学研究所研究員だった1991年（当時33歳）。ポス（天沼宏主任研究員）の許可を得て、近くのペットショップで購入したゼブラフィッシュを実験室に持ち込み、魚を用いた発生学の研究を開始した。当時世界的に広がりを見せていたゼブラフィッシュの実験系だが、日本ではまだ誰も使っておらず、何もかも手探り状態。ただ、魚好きの私にとっては願ってもないチャンスを手にしたわけで、「一人で、そして自分の責任でやる」と宣言したことばの重みを感じる暇もなく、日々実験（最初は魚のお世話だけ）に取り組んだ。今思えば、一研究員の私には確たる勝算があるはずもなく、透明で綺麗なゼブラフィッシュ胚を見て、おもしろいことができそうだという直感につき動かされていた気がする。以来30年以上の月日が流れたが、ゼブラフィッシュとの付き合いは変わっていない。1999年に国立遺伝学研究所（遺伝研）でPIとなった時には、ゼブラフィッシュに加えて、メダカも研究に導入した。メダカはゲノムサイズがゼブラフィッシュの半分、日本での研究蓄積のおかげで複数の近交系統が利用可能など、遺伝学やゲノム科学の研究ではゼブラフィッシュより優れている。メダカを導入するに当たり、まず考えたのはゲノムの解読。2000年当時、ヒト、マウス、ラットなど高等脊椎動物のゲノム配列が次々に決定され、瞬く間に「ゲノム配列なくしてはモデル動物たり得ない」という時代に突入していた。当時所長であった小原雄治先生を必死に説得し、メダカゲノムプロジェクトを遺伝研（小原、武田）と生物情報の森下真一先生（東京大学・新領域）でキックオフできた。メダカの利点が生かされ、先行していたゼブラフィッシュよりも早く高精度の概要配列を発表でき（Kasahara et al., 2007; ゼブラフィッシュは2012年に概要完成）、脊椎動物のゲノム進化の研究に貢献するとともに、メダカの遺伝学を後押しすることができた。このプロジェクトを通して、発生「屋」の私がゲノムの世界と初めて関わりを持ち、一次情報の産生、解析に立ち会うという貴重な経験をさせてもらった。現在私の研究テーマの一つであるエピジェネティクス、エピゲノム研究のルーツはここにある。

ゼブラフィッシュを用いた実験発生学

実験発生学とは、発生中の胚に種々の実験操作を加えて、その影響を調べることで、発生の原理を明らかにする学問である。代表的な例が前述のシュペーマンとマンゴルドによるオーガナイザーの研究である。そしてゼブラフィッシュは胚操作が容易なので、実験発生学に適したモデルでもある。1993年に理研から名古屋大学理学部の黒岩厚研究室に助教(のちに准教授)として異動した頃には、ゼブラフィッシュの実験系に慣れ、私の興味である初期胚のパターン形成の実験発生学が展開できる状況になっていた。私が今でも気に入っている、中胚葉誘導(Mizuno et al., 1996)と体節形成(分節時計)(Horikawa et al., 2006)研究はこれにあたる。いずれも正常、または遺伝的に改変した細胞を宿主胚に移植することで、正常発生に外部より摂動を与えてその結果を解析するアプローチをとっている。解析には数理モデルを用いることもあった。ここでは分節時計の研究をまとめた図を載せたので見ていただきたい(図1)。

実は来年2024年はシュペーマンとマンゴルドが一連のオーガナイザー研究をまとめて出版してから100年目にあたる。"Spemann-Mangold Centennial Symposium Self-Organization in Biology 2024 in Freiburg"が企画され、私もオーガナイザーの一人として参加する予定である。この分野の海外の友人たちと旧交を温める良い機会となりそうである。ちなみに最近の若い研究者は、ES細胞などの幹細胞、iPS細胞に触発されて発生学に入る人が多いと思うが、私の年代の発生学者は、オーガナイザーによる二次軸形成と答える人が断然多い。

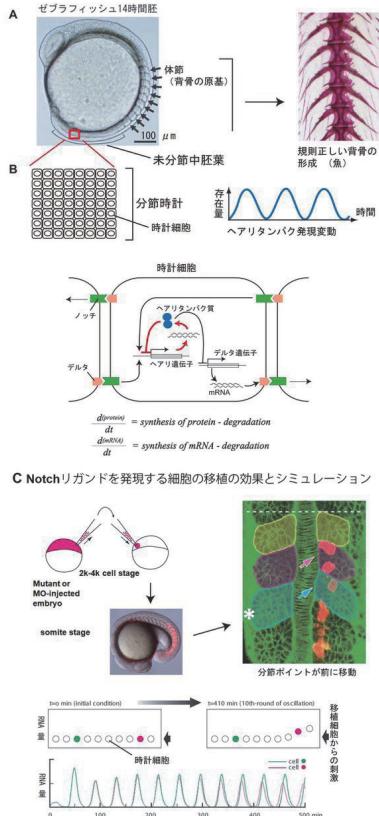


図1

突然変異体 --- 予期せぬ出会いが魅力

小型魚類は世代交代の時間が3ヶ月と短く、次の世代への影響を調べる遺伝学が脊椎動物の中ではマウスと共に容易である。遺伝学をやっているとその時々に出会う突然変異体によって研究の方向がガラリと変わることがよく起こる。ノックアウトマウスの表現型によって人生が変わってしまった研究者はたくさんいるはずである。ここでは私が影響を受けたメダカ変異体の3つを簡単に紹介したい。いずれも今の仕事につながっているものである。

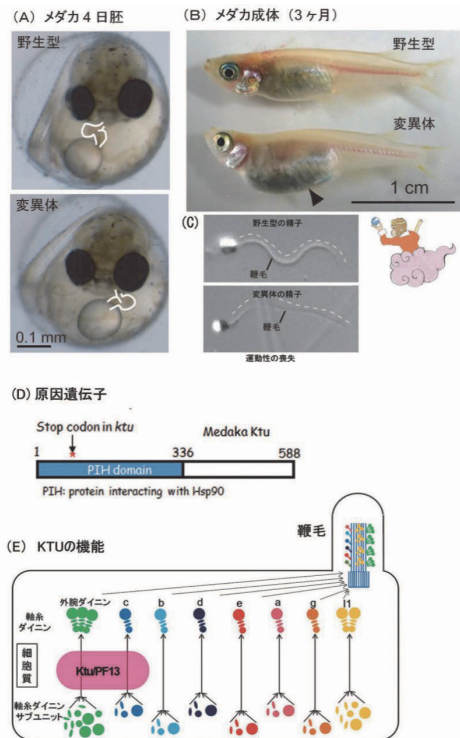


図2

(1) 左右軸形成異常の *ktu* 変異体 (図2)

国立遺伝学研究所に在職していた時に、メダカの中規模(小型水槽3000個程度を用いて)な突然変異体のスクリーニングを実施した。強力な発癌剤ENUを成体雄に投与し、精子ゲノムに変異を入れ、その子孫の影響を調べる古典的な三世スクリーニングである。ポストドク数名とともにひたすら交配を繰り返し、発生異常を示す系統単離を2年間にわたって行った。なかなかハードな実験であった。そのスクリーニングで目に留まった一つが、メダカ突然変異体 *ktu* である。*ktu* は、左右非対称に配置される内臓(左側に心臓、右側に肝臓など)の位置がランダムとなる典型的な左右軸喪失変異体で(図2A)、興味深いことに、このメダカ変異体は成長の過程で必ず腎臓肥大を発症し、腹部がふくれる(図2B)。腎臓肥大のため背筋が曲がった成魚の姿(泳ぎもふらつく)が、孫悟空が空を飛ぶために乗る筋斗雲(きんとうん)に似ているとして、この変異体は *kintoun (ktu)* と命名された。内臓配置の異常と腎臓病は一見無関係と思われがちだが、当時すでに両者共に細胞に生えている繊毛の異常が原因であることが知られていた。詳しい解析の結果、*ktu* 変異体では、繊毛・鞭毛の運動に不可欠なモータータンパク質の複合体であるダイニン

ームが欠損して、運動性を失っていることが判明した (図 1C)。さらに解読されたばかりのゲノム情報を利用して原因遺伝子を同定したところ、変異を起こしていた遺伝子はヒトを含めた脊椎動物、昆虫、そして単細胞生物まで、繊毛・鞭毛を持つ生物に広く存在する普遍的な遺伝子であった。しかも、これまで全く知られていない新規のタンパク質をコードしていた (図 1D)。

生物種間で保存されている遺伝子は、ヒトの遺伝病の原因となる場合が多い。繊毛が原因で起こる病気は腎臓肥大だけでなく、いわゆる繊毛病 (Kartagener 症候群ともよび、気管支炎、男性不妊や内臓逆位などの症状を示す遺伝病) も有名である。そこで、この繊毛病の研究で実績のある Heymut Omran 先生 (当時 Freiburg University、ドイツ) に連絡をとり共同で、繊毛病の患者のゲノム DNA を 100 家系以上調査した。その結果 2 つ家系で、今回発見した *KTU* 遺伝子の変異が原因となって繊毛病を発症していた。この病気では、気道に面した細胞に生えている繊毛の運動性が低下して、気管支内に進入した細かい異物を排除することができず炎症が起きる。また男性不妊は精子鞭毛の運動異常が原因である。さらに、David R. Mitchell 先生 (SUNY Upstate Medical University、米国)、神谷律先生 (当時東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻) と共同で、単細胞生物であるクラミドモナスでもこの遺伝子が破壊されると鞭毛の運動が完全に停止すること、そしてその原因がダイニンアーム前駆体の形成阻害にあることも突き止めた。これらの研究を通して、細胞・器官の機能に重要な繊毛・鞭毛がもつダイニン複合体の新たな形成過程が明らかとなった (図 2E)。この論文執筆はドイツ、米国、日本の PI が共同作業する形となり、時差の関係でいつも私は深夜の対応であったことを覚えている。しかも当時はネット環境が今とは比べものにならないくらい貧弱で、ネットよりも 3 点を結ぶ電話会議 (teleconference) を多用し、論文が accept された時も電話でお互いの労をねぎらった (Omran et al., 2008)。分子生物学、ゲノム科学の研究が進む脊椎動物モデルから、変異体スクリーニングの最初の段階で、新規の、しかも普遍的に重要な遺伝子に出会えたことは幸運であった。また共同研究の過程で異分野の PI と深く交流できたことは有意義であった。

実は *KTU* のストーリーはこれで終わらなかった。論文発表後しばらくして、この *KTU* タンパク質はファミリー (PIH ドメインを有している) を構成していることが判明したからである。早速、それぞれの機能解析を今度はゼブラフィッシュを用いて行った。ゼブラフィッシュは *ktu* を含む 4 つの遺伝子がこのファミリーを構成しており、逆遺伝学であるゲノム編集で、全ての遺伝子の機能を破壊した。そして全ての遺伝子破壊系統が、鞭毛、繊毛の運動の異常を示した。精子鞭毛の CryoEM の観察なども導入して (吉川雅英先生 (東京大学医学系研究科) との共同研究)、それぞれが別のダイニンアームの構成要素の形成に寄与していることを突き止めた (Yamaguchi et al., 2018)。この変異体をきっかけに左右時形成はこの後も武田研究室の主要な研究テーマとなり、今でも続いている。

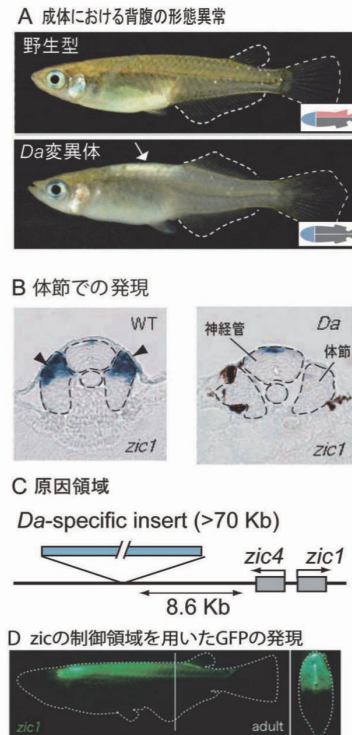


図 3

## (2) Double anal fin (*Da*)変異体 (図 3)

メダカのモデル生物としての魅力は、豊富な自然突然変異体のコレクションである。1960 年代にデビューしたゼブラフィッシュに比べ、日本でのメダカ研究の歴史は古い。さらに小中学校や家庭で飼育されることが多い。その過程で自然に出現する突然変異体 (自然突然変異体) が収集されて、ナショナルパオリソースの一環として基礎生物学研究所で維持されている。その中で奇妙な外形を示す *Double anal fin (Da)* 変異体が私の目に留まった。*Da* は初期発生は正常だが、発生後期、成長期になると、体幹部の背中半分の外形 (背鰭 (ひれ) のかたち、色素のパターン、体型全体) が腹側のそれと同じなる。メダカは表層を泳ぐ魚で、それに適応して、背鰭は小さく、体型も背中が平坦 (直線的) な形をしている。さらに魚は一般に銀色の色素は腹側のみに分布し、背中側は黒っぽい色をしている場合が多い (保護色)。*Da* 変異体は、この背中の中層が腹側化している (大きな背鰭、tear-drop 型の体型、銀色の色素細胞が背中にも分布) (図 3A)。一見すると、中層を遊泳する鯉、鮪の体型に似ている。この表現型はメンデルの法則 (semi-dominant) で遺伝するので、この劇的な外形の変化は一つの遺伝子座の変異によって引き起こされることがわかってきた。「背に腹は変えられない」という諺はあるが、背が腹に変わってしまった変異体なのだ。早速ポジショナルクローニングを実施したところ、Zinc-finger 型転写因子 *Zic1*、*Zic2* をコードする遺伝子の近傍に巨大な DNA 断片が挿入されていることが判明した (図 3C)。この二つの遺伝子は進化の過程で duplication が起きて独立したが、今も共有の enhancer で発現制御が行われている。*zic1, 2* 遺伝子は神経発生に重要な転写因子であることが知られていたが、DNA 断片の挿入は神経組織での *zic* 遺伝子の発現

はほとんど影響がない。そのおかげで神経発生は正常で致死とならない。一方、*zic* 遺伝子は体節（筋節）でも発現するが、*Da* 変異体では体節の *zic* 遺伝子の発現が特異的に喪失していた。他の解析も併せて、*Da* 変異体は巨大な DNA 断片の挿入によって誘発された、*zic* 遺伝子の体節エンハンサー変異体であると結論づけた。*Zic* は神経分化の文脈で主に研究されていたが、発生初期で致死とならない *Da* 変異体が手に入ったことで、*Zic* の体節での役割を明らかにすることができた。

興味深いことに、野生型胚では *zic* 遺伝子は体節の背中側半分に限局して発現している。つまり、からだの内部に存在する筋肉組織の背腹のパターンが、からだの形（体型）だけでなく、外側の色素の分布パターン、鱗の大きさまでも制御していたのである。そして *Zic* はこれらの形質の上位に位置する重要な転写因子（selector gene）として機能している。*zic* 遺伝子は魚類から哺乳類まで全ての脊椎動物で保存され、発現パターンも共通であることから、脊椎動物のかたちの進化と多様化に重要な役割を担っていることが示唆された（Moriyama et al., 2012; Kawanishi et al., 2013）。

原因遺伝子が特定された *Da* 変異体からは、多くの研究が派生し、発展した。例えば、体節内での *zic* の発現境界の成立メカニズム（Abe et al., 2019）、体節が体幹部の外骨格（ウロコや鱗条）を産生するという発見（Shimada et al., 2013; 外骨格は全て神経堤細胞から由来すると思われる）、*zic* の下流因子 *Wnt11* の機能（Heiling et al., 2022）など。さらに *zic* 遺伝子の体節背側での発現は、体節に由来する組織（筋肉、脊椎骨、外骨格など）で一生涯発現が維持され（図 3D）、それがエピジェネティック修飾によることが判明した（Nakamura et al., 2014）。これをきっかけに、メダカを用いた発生重要遺伝子のエピジェネティック制御、エピゲノムの初期胚での成立機構の研究に発展した（Nakamura et al., 2021; Fukushima et al., 2023）。また、*Da* 変異体で *zic* 遺伝子近傍に挿入された DNA 断片は全長 180kb の最大級のトランスポゾンであることも判明した（図 3C）。しかもその中身は、*piggyBac* 型トランスポゾンとヘルペスウイルスがそれぞれ完全な形を残して合体した新規の転移因子（mobile element）であることも驚きであった（Inoue et al., 2017; Inoue & Takeda, 2023）。このように武田研の過去 15 年間の研究の多くが *Da* 変異体から生まれた現象を追求しており、今もそのいくつかが進行中である。*Da* 変異体は 1960 年代に名古屋大学の富田英夫教授が名古屋近郊で採取したメダカ集団（富田コレクション）から見つかったものである。我々にとってメダカ *Da* 変異体は、まさに自然からの貴重な贈り物であった。

### （3）耳石欠損の *ha* 変異体（図 4）

最後に紹介する変異体も富田コレクションの一つで、これも自然からの贈り物。*ha* 変異体は遊泳中に姿勢維持が困難になるという表現型によって同定された。ある頻度で銀色の腹を上に向けるので、遊泳中の集団を上から眺めると、きらりとひかる個体

が時々目にはいる（図 4A）。魚類の姿勢は、光に向かって背を向ける反応（背向反射）と内耳からの情報（耳石のずれ）の二つで維持される。この *ha* 変異体は耳石が形成されず、重力感知ができないことは知られていた（図 4A）。学生のテーマ（練習問題？）の一つとして、バイオリソースからこの変異体を提供してもらって、武田研でポジショナルクローニングを実施した。その結果原因遺伝子は、脊椎動物では初めてとなるポリケタイド合成酵素をコードする遺伝子（medaka (*Olyzias latipes*) Polyketide synthase, *OIPKS* と命名）であった。*ktu* 変異体と同様に、「クローニングしてみたものの、これ何?」、という事態が再来した。今回原因遺伝子として同定した *OIPKS* は複数の酵素ドメインを持つ type I PKS で、動物に普遍的に存在する脂肪酸合成酵素 FAS と構造上の類似性がある（図 4B）。表現型の詳細な解析より、*ha* 変異体では胚の耳胞内で炭酸カルシウムの結晶化の最初のステップである核形成（図 4C）が起こっていない。実は、棘皮動物のウニには PKS の遺伝子が 2 つ（SpPKS1, SpPKS2）ゲノム内に存在することはすでに報告されていたので、アンチセンス法を用いて機能阻害実験を試みた。その結果、SpPKS2 をノックダウンしたウニ幼生では、炭酸カルシウムの骨格（骨片）の形成が完全に阻害された。これらの結果は、生物の炭酸カルシウムのバイオミネラルゼーションには、PKS の合成産物が普遍的に必要なことを示唆している。ここまですべて論文として発表した（Hojo et al., 2015）。しかし、その後様々な努力にもかかわらず、*OIPKS* の産物は今も未同定のままとっている。

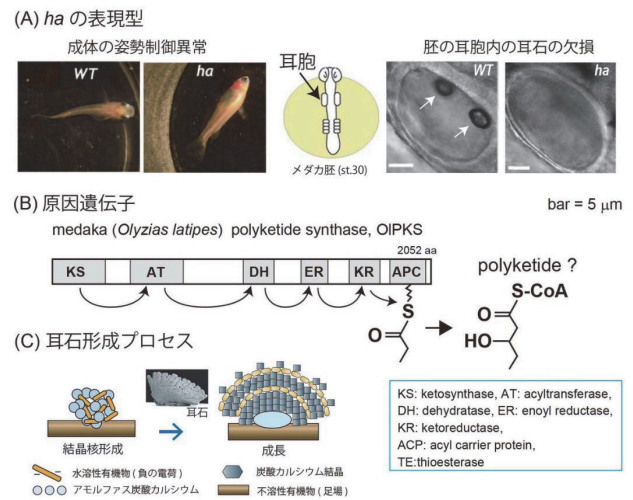


図 4

多様な PKS 遺伝子は微生物、植物を中心に研究されてきた。ポリケタイドは植物、糸状菌、昆虫など広範囲の生物種が合成する脂質様の低分子化合物であり、様々な生理活性を有し、食品、医薬品としても活用されている。一方、我々は PKS がバイオミネラルゼーションの核形成に必須な産物を産生している可能性を初めて報告した。ヒトを含む脊椎動物の骨格や歯はリン酸カルシウムを主成分とするが、地球生態系を構成する多くの生物は炭酸カルシウムからなる骨格や殻を作る（サンゴ、貝類、円石藻な

どのプランクトンなどの石灰化生物)。海洋石灰化生物はそのバイオマスの多さから地球規模の炭素循環の鍵を握る生物である。近年海洋の酸性化がこれら生物の石灰化能を低下させていることが報告されており、石灰化のメカニズムの解明が急がれる。メダカ PKS の産物同定が進めば、地球化学、環境生物学の分野にも貢献できると思われる。

#### これからの研究

前述の3つの変異体の研究の延長として、今後は是非ともやり遂げたい課題がある。(1) 左右軸形成のシグナル因子の可視化とその動態、(2) 体節組織の分化能の進化、(3) OIPKS の産物の同定と炭酸カルシウムの普遍的な結晶化メカニズム、である。

(1) について。左右時形成は、マウス、ゼブラフィッシュを用いた研究でかなりのことがわかっている。つまり、胚の尾部にある小さな左右軸オーガナイザーとよばれる組織が重要で、その上皮にはえている運動性繊毛が左向き水流を作り出し、水流を感知した左側の組織で Nodal (Tgf- $\beta$  スーパーファミリー) が分泌される。Nodal は胚の左側全体に拡散、伝搬し、左側特異的な遺伝子発現ネットワークを ON にする。このストーリーは、主に遺伝学の結果に基づいたもので、私も納得している。しかし発生学者としては、シグナル因子がどのように胚の左側全体に拡散するか、そして右側ではどのようなメカニズムで拡散が抑制されているかを、シグナル因子の可視化を通して解明したい。胚発生の過程で、細胞外に分泌されたシグナル因子が可視化された例はほとんどない。濃度が低いこと、細胞間隙を動き回っていることが光学的に補足できない理由と考えられている。直接見ないと納得しない性分から、私は最新の技術(抗体トラップ法、FCS など)を駆使して可視化にチャレンジしたい。ゼブラフィッシュ胚はこのチャレンジには最適である (Ikeda et al., 2023)。

(2) について。体節組織は、脊椎骨(内骨格)、外骨格(からだの外側を覆う鱗など)、骨格筋、真皮など脊椎動物のからだの主要な構成要素を生み出す。体節由来のこれら組織の種類と比率は脊椎動物ごとに多様で、進化に伴って変化している。脊椎動物の多様な体制が作られるメカニズムを探るためにも、体節組織の分化能が動物種ごとにどのように変化しているのかを理解することが重要と考えている。遺伝子発現(シングルセルレベル)、移植による細胞系譜の追跡を様々な実験動物で行い、理解を深めたい。

(3) について。OIPKS の産物がわからない状況を少しでも早く打開し、炭酸カルシウムのバイオミネラリゼーションの核形成の普遍的なメカニズムに迫りたい。具体的アプローチについては検討中である。

以上3つが当面の課題と考えている。特に(1)と(3)については、タンパク質動態研究所の皆様からの助言と協力を得ながら進めて行ければと思っている。また、私がこれまで培ってきた個体、組織レベルの知識と経験が所内の研究に少しでも役立つこと

も願っている。

最後に、私は、「生物の正常な発生は美しい」、「発生学はアート」、「胚は芸術作品」、といった言葉をよく口にする。PKS のストーリーで出てきた海洋プランクトンの円石藻も美しい幾何学的な殻(炭酸カルシウム結晶)を作ることで知られており、魅かれる所以である。このような生き物へのこだわりを持ちつつ、研究者人生を全うできれば幸せと思っている。

#### 文献

Abe K., Shimada S., Tayama S., Nishikawa S., Kaneko T., Tsuda S., Karaiwa A., Matsui T., Ishitani T., & Takeda, H. Horizontal boundary cells, a special group of dermomyotomal cells, play crucial roles in the formation of dorsoventral compartments in teleost somite. *Cell Reports*, 27, 928–939. (2019).

Fukushima HS, Takeda H, & Nakamura R. Incomplete erasure of histone marks during epigenetic reprogramming in medaka early development. *Genome Res.* 2023 Apr;33(4):572-586, (2023).

Heilig AK, Nakamura R, Shimada A, Hashimoto Y, Nakamura Y, Wittbrodt J, Takeda H, & Kawanishi T. Wnt11 acts on dermomyotome cells to guide epaxial myotome morphogenesis. *Elife* 6;11:e71845, (2022).

Horikawa, K., Ishimatsu, K., Yoshimoto, E., Kondo, S. & Takeda, H. Noise-resistant and synchronized oscillation of the segmentation clock. *Nature* 441, 719-23, (2006).

Ikeda T, Inamori K, Kawanishi T & Takeda H. Reemployment of Kupffer's vesicle cells into axial and paraxial mesoderm via transdifferentiation. *Dev Growth Differ* 64(3):163-177, (2022).

Inoue Y, Takeda H. Teratorn and its relatives - a cross-point of distinct mobile elements, transposons and viruses. *Front Vet Sci.* 10:1158023 eCollection 2023.

Inoue, Y., Saga, T., Aikawa, T., Kumagai, M., Shimada, A., Kawaguchi, Y., Naruse, K., S. Morishita., Koga, A. & Takeda., H. Complete fusion of a transposon and herpesvirus created the Teratorn mobile element in medaka fish. *Nature Commun.* 8, 551. (2017).

Kasahara, M., Naruse, K., Sasaki, S., Nakatani, Y., Qu, W.,

Ahsan, B., Yamada, T., Nagayasu, Y., Doi, K., Kasai, Y., Jindo, T., Kobayashi, D., Shimada, A., Toyoda, A., Kuroki, Y., Fujiyama, A., Sasaki, T., Shimizu, A., Asakawa, S., Shimizu, N., Hashimoto, S., Yang, J., Lee, Y., Matsushima, K., Sugano, S., Sakaizumi, M., Narita, T., Ohishi, K., Haga, S., Ohta, F., Nomoto, H., Nogata, K., Morishita, T., Endo, T., Shin, I. T., Takeda, H., Morishita, S. & Kohara, Y. The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. *Nature* 447, 714-9, (2007).

Kawanishi, T., Kaneko, T., Moriyama, Y., Kinoshita, M., Yokoi, H., Suzuki, T., Shimada, A. & Takeda, H. Modular development of the teleost trunk along the dorsoventral axis and *zic1/zic4* as selector genes in the dorsal module. *Development*, 140, 1486-96, (2013).

Mizuno, T., Yamaha, E., Wakahara, M., Kuroiwa, A. & Takeda, H. Mesoderm induction in zebrafish. *Nature* 383, 131-132, (1996).

Moriyama, Y., Kawanishi, T., Nakamura, R., Tsukahara, T., Sumiyama, K., Suster, M.L., Kawakami, K., Toyoda, A., Fujiyama, A., Yasuoka, Y., Nagao, Y., Sawatari, E., Shimizu, A., Wakamatsu, Y., Hibi, M., Taira, M., Okabe, M., Naruse, K., Hashimoto, H., Shimada, A. & Takeda, H. The medaka *zic1/zic4* mutant provides molecular insights into teleost caudal fin evolution. *Curr Biol* 22, 601-7, (2012).

Omran, H., Kobayashi, D., Olbrich, H., Tsukahara, T., Loges, N. T., Hagiwara, H., Zhang, Q., Leblond, G., O'Toole, E., Hara, C., Mizuno, H., Kawano, H., Fliegau, M., Yagi, T., Koshida, S., Miyawaki, A., Zentgraf, H., Seithe, H., Reinhardt, R., Watanabe, Y., Kamiya, R., Mitchell, D. R. & Takeda, H. *Ktu*/PF13 is required for cytoplasmic pre-assembly of axonemal dyneins. *Nature* 456, 611-6. (2008).

Shimada, A., Kawanishi, T., Kaneko, T., Yoshihara, H., Yano, T., Inohaya, K., Kinoshita, M., Kamei, Y., Tamura, K., Takeda, H. Trunk exoskeleton in teleosts is mesodermal in origin. *Nat Commun* 4, 1639, (2013).

Nakamura, R., Tsukahara, T., Qu, W., Ichikawa, K., Otsuka, T., Ogoshi, K., Saito, T.L., Matsushima, K., Sugano, S., Hashimoto, S., Suzuki, Y., Morishita, S. & Takeda, H. Large hypomethylated domains serve as strong repressive machinery for key developmental genes in vertebrates. *Development* 141, 2568-2580, (2014).

Nakamura, R., Motai, Y., Kumagai, M., Wike, C.L., Nishiyama, H., Nakatani, Y., Durand, N.C., Kondo, K., Kondo, T., Tsukahara, T., Shimada, A., Cairns, B.R., Aiden, E.L., Morishita, S. & Takeda, H. CTCF looping is established during gastrulation in medaka embryos. *Genome Res.* 31(6):968-980. (2021).

Yamaguchi H., Oda T., Kikkawa M., & Takeda H. Systematic studies of all PIH proteins in zebrafish reveal their distinct roles in axonemal dynein assembly. *ELife* 9(7), (2018).

## 図の説明

### 図1. 体節形成を制御する分節時計の作動原理の研究

A.ゼブラフィッシュ体節形成期胚（受精後 14 時間）での体節形成（分節）。ゼブラフィッシュでは体節は 30 分に一回前方から順番に、一対ずつ等間隔に中胚葉組織からくびれ切れて形成される。体節の分節は規則的な椎骨の形成に必須である。

B.分節前の中胚葉組織（未分節中胚葉）では、細胞ごとに転写因子ヘアリの ON/OFF が周期的に起こっている。ヘアリは分解されやすく、かつ一定量以上蓄積すると自身の転写を阻害する。すなわち、以下のサイクルが 30 分周期で起こっている。

(i)ヘアリの転写→(ii)ヘアリ mRNA からの翻訳→(iii)蓄積したヘアリによるヘアリ遺伝子の転写抑制→(iv)ヘアリの分解→(i)ヘアリの転写……

個々の細胞でのヘアリの周期的変動は、細胞間のシグナル伝達系であるノッチ（まつ結合型受容体）-デルタ（膜結合型リガンド）を介して個々の細胞のヘアリの周期が同期され、結果として未分節中胚葉組織全体で 30 分周期のヘアリ転写因子の発現変動が繰り返される。ヘアリの周期が一回まわるとに組織の前方で分節が起こる。

C.ノッチリガンドを恒常的に発現した細胞の移植実験。移植された細胞により、組織全体の分節時計の進みが加速されて、分節間隔が短縮し、結果的にコントロール側に比べて分節ポイントが前方へ移動した（矢印）。この結果は数学的シミュレーションの予測と一致した。すなわち、B で示された遺伝子ネットワークとノッチによる細胞間の同調が実際の胚の組織で起こっていることが証明された。

### 図2. メダカ左右軸変異体 ha

A.メダカ左右軸変異体 ha の表現型。心臓など内臓の左右非対称の配置がランダムとなる。

B.腎臓の肥大（多発性嚢胞腎）も発症する。

C.鞭毛・繊毛の運動性の喪失も起こる。

D.原因遺伝子 *ktu* は PIH ドメインを有する機能未知のタンパク質をコードする新規遺伝子であった。

E.KTU は細胞質で、ダイニン複合体（ダイニンアーム）形成に関与している。ダイニン複合体は細胞質でアセンブルされたのち、

繊毛基部へ運ばれる。

### 図3. メダカ自然突然変異体 *Da* 変異体

A.成体の表現型。変異体では、からだの背側の形質（鱗のかたち、銀色素（矢印））が腹側の形質に置き換わっている。また変異体は全体として teardrop 型の形になり、背中が丸くなる。

B.原因遺伝子 *zic1* の発現。野生型の胚では、*zic* 遺伝子は体節（筋節）の背側に限局して発現するが、*Da* 変異体では発現が消失している。これにより背側の体節が腹側の性質に変化していると予想される。

C.変異体の *zic* 領域には 70kb 以上（実際は全長 180kb）の巨大な DNA 断片が挿入されている。これにより *zic* 遺伝子の体節組織での発現を制御する体節エンハンサーが機能しない。

D.*zic* 遺伝子の制御領域を GFP につないだコンストラクトで作成したトランスジェニック (Tg) 系統の成体。GFP の発現は内在の *zic* 遺伝子の発現を反映している。この Tg 系統の観察により、*zic*

遺伝子の体節背側での発現は胚期だけではなく、成体になっても一生涯維持されていることが判明した。

### 図4. メダカ自然突然変異体 *ha* 変異体

A.*ha* 変異体は姿勢制御に異常がある。変異体では、胎児期の耳胞内に形成される耳石が欠損している。

B.原因遺伝子は複数の酵素ドメインを持つ type I Polyketide synthase (OIPKS) であった。このタイプの酵素は一般に malonyl-CoA または acetyl-CoA を基質として、polyketide 様の低分子化合物を産生することが知られている。OIPKS の合成産物は未同定である。

C.炭酸カルシウムを含むバイオミネラリゼーションのプロセス。最初にアモルファス炭酸カルシウムが集合する核形成が起こる（プロセスの詳細は不明）。この核を中心に、炭酸カルシウム結晶（微量のタンパク質成分を含む）が急成長する。