

研究成果

動物遺伝子の多様化パターンと動物の爆発的多様化との関連 / 遺伝子再利用仮説

バーゼル大学 菅 裕

派遣期間 2003年4月1日～2004年3月31日

研究機関 Department of Developmental Biology, Biozentrum,
University of Basel, Basel, Switzerland

研究指導者 Prof. Walter J Gehring

派遣者は、チロシンキナーゼ(PTK)遺伝子族をはじめとする多くの細胞間情報伝達にかかわる遺伝子族や、発生過程の形態形成を直接制御する転写因子である Pax 遺伝子族の多様化パターンの研究から、これらの遺伝子族は、動物が植物や菌類から分岐した直後、カイメンとそれ以外の動物（真正後生動物）との分岐前に、遺伝子重複とドメインシャプリングの機構により爆発的に多様化したことを示した（図1）。その後カンブリア爆発が起きた時期も含めて、新しい機能を持った遺伝子（サブファミリーに対応）が殆ど作られていないことから、動物の多様性の進化は、新しい機能を持った新しい遺伝子を作り出すことによってではなく、すでにあった遺伝子に新しい役割を追加して再利用することによって達成されたと考えている（遺伝子再利用仮説）。

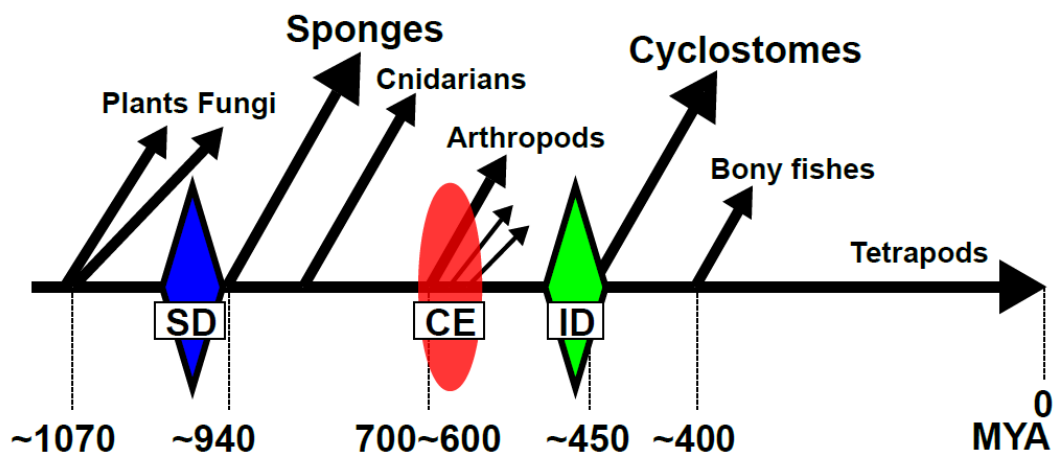


Fig.1

Branching order of the major groups of animals and phylogenetic positions of the bursts of gene duplications. SD and ID, extensive gene duplications that gave rise to subfamilies and members of a particular subfamily, respectively; CE, the Cambrian explosion.

この仮説を実験的に検証するため、派遣先では主に次の2つのプロジェクトにかかわった。

- 1、カイメンおよびクラゲからクローニングされた Pax 遺伝子の機能の解析
- 2、カイメンからクローニングされたβ-catenin 遺伝子の機能解析を中心とした、動物の体軸の起源の研究。

2については興味深い結果が得られているものの、現在進行中のプロジェクトであるため、本報告書では主に1について報告する。

Pax 遺伝子族は動物の発生プロセスの制御に深くかかわり、特に Pax6 遺伝子は高等三胚葉動物における眼形成のマスターコントロール遺伝子とされる。しかし、刺胞動物、海綿動物など下等な動物の Pax 遺伝子の機能解析はまだ少ない。派遣者らのグループはまず、2種類のカイメン *Ephydatia fluviatilis* 及び *Microciona prolifera* から1種類ずつ、更に眼を持つクラゲ *Cladonema radiatum* から3種類の Pax 遺伝子を単離した。これらを含めた分子系統樹(図2)は、Pax 遺伝子族の6つのサブファミリーの分岐は古く、カイメンと真正後生動物の分岐以前にさかのぼることを示している。

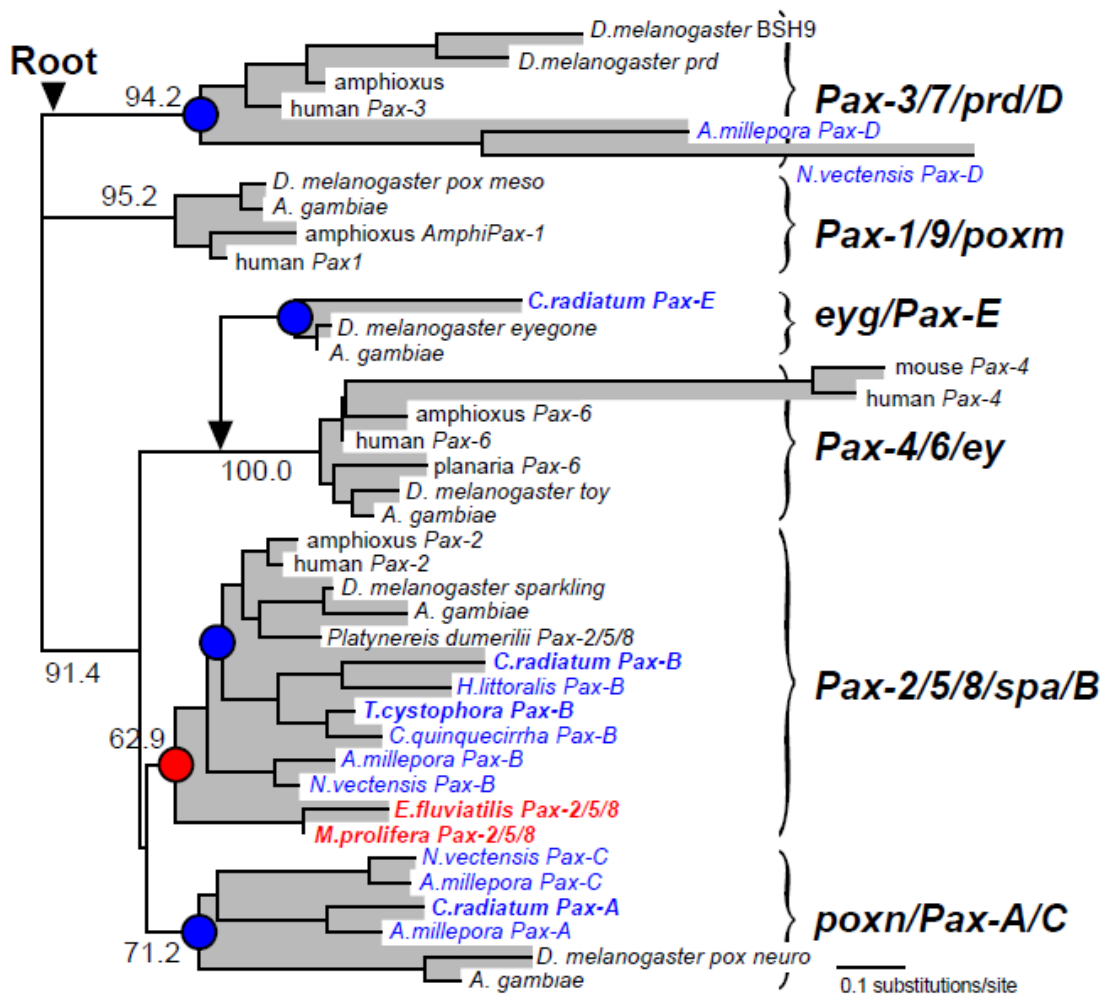


Fig.2

The phylogenetic tree of Pax family inferred from Paired domain sequences by Maximum likelihood method. The names of sequences from Cnidarians and sponges are shown blue and red, respectively. The Cnidarians/Bilaterians split and Sponge/eumetazoan split are indicated by blue and red circles, respectively. The name of each subfamily is shown on the right of each cluster. The root of the tree was inferred separately from the phylogenetic tree of homeobox sequences.

単離した Pax 遺伝子の機能解析は、主にショウジョウバエのシステムを使用して行った。例えば、ある Pax 遺伝子をショウジョウバエの眼以外の部分に発現させ、そこに異所性の眼が形成されるかどうか見ることで、この遺伝子が Pax6 サブファミリーに近い機能を持っているかどうか調べられる。

Kozmik ら(2003)は、刺胞動物門箱虫綱に属するクラゲ *Tripedalia cystophora* の PaxB を調べ、この遺伝子が光受容器官 *rhopalium* に発現していること、またショウジョウバエに異所性の眼を誘導できることから、Pax2/5/8/spa/B 型遺伝子が、元来眼形成に決定的な役割を果たす遺伝子であると主張した。さらに、左右相称動物では、PaxB から分岐した Pax6 がその役割を PaxB から奪い取り、眼のマスターコントロール遺伝子として働いていると考えた。

ところが、派遣者らが刺胞動物門ヒドロ虫綱に属するクラゲ *Cladonema radiatum* の PaxB を調べた結果、PaxB は眼よりもむしろ卵に発現しており、またショウジョウバエに異所性の眼を誘導する能力がなかった。すなわち、*C.radiatum* の PaxB は、眼形成には関わらず、卵の成熟に関わっている可能性がある。では、*C.radiatum* ではどの Pax が眼の形成に関わっているのか？或いはどれも関わっていないのか？派遣者らは *C.radiatum* の PaxA (poxn/PaxA/C サブファミリーに所属) が眼に発現し、またショウジョウバエに異所性の眼を誘導できることを示した (図3)。更に驚くべきことに、カワカイメン *E.fluviatilis* の EfPax2/5/8 遺伝子も、ショウジョウバエに異所性の眼を誘導できた (図4)。



Fig.3

(Left) the expression pattern of PaxA, and (right) the ectopic eye of *Drosophila* induced by PaxA.

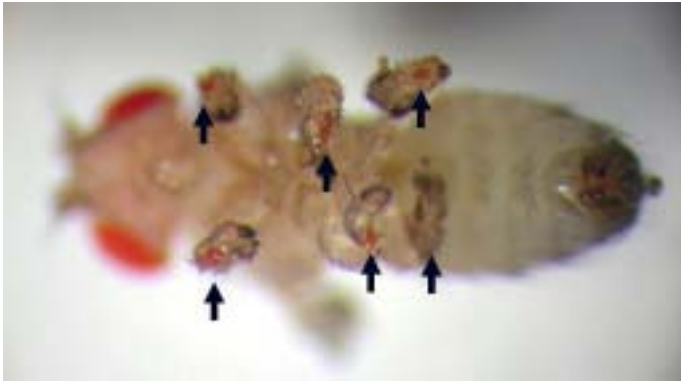


Fig.4

The ectopic eyes (arrows) induced by EfPax2/5/8.

以上の結果をまとめると、

- 1) 異所性の眼を誘導するという、Pax6 的な眼形成のマスターコントロール遺伝子としての働きは、Pax6 サブファミリーだけではなく、Pax2/5/8/spa/B サブファミリーや poxn/PaxA/C サブファミリーの一部の遺伝子にも備わっている。
- 2) 刺胞動物箱虫綱、刺胞動物ヒドロ虫綱、左右相称動物の各系統で、異なるサブファミリーの遺伝子に、眼を形成するという役割が割り当てられている
- 3) カイメンは眼や神経系を持たないにも拘らず、カイメンの Pax の基本的機能は、少なくとも異所性の眼を形成することに関して、ショウジョウバエの Pax6 と大きく変わらないと言える。これらの結果をどのように理解するか？ 1)、2) については、Kozmik らのように、それぞれの動物の系統で独立に、異なるサブファミリーの遺伝子を、眼形成に使うために進化させた、と考えるよりも、もともと Pax の各サブファミリーには機能の冗長性があり、動物の各系統で異なるサブファミリーが柔軟に選択され、眼形成という機能を割り当てられた、と考える方が自然である。また 3) から、Pax の基本的機能は動物進化のごく初期に既に確立され、当時は眼形成とは全く関わりのない目的に使われており、ずっと後になってから真正後生動物の系統で、もともとの機能を大きく変えることなく、眼形成をコントロールするなどの機能が付け加えられた、というシナリオが導かれる。Pax のサブファミリーの重複が、基本的機能を維持したまま行われたと考えれば、眼形成にかかわる Pax サブファミリーが複数あるという冗長性や、またサブファミリーの選択が動物の各系統によって異なるという柔軟性についてもうまく説明できる (図5)。これらは「遺伝子再利用仮説」の主張とよく一致する。

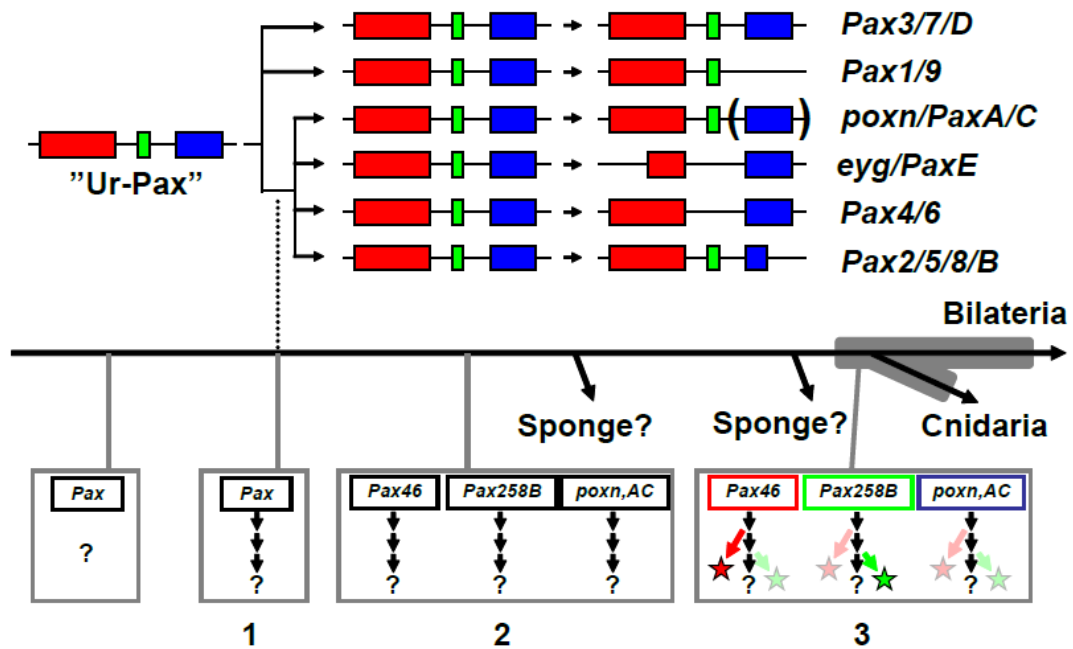


Fig.5

A scenario of the Pax family evolution. The early establishment (1) of basic function of Pax protein, followed by the gene duplications (2) and the intercalations/recruitments (3) of other gene cascades explain the ectopic eyes induced by sponge Pax and redundancy and flexibility of Cnidarian and Bilaterian Pax genes.

更に派遣者らのグループは、ある遺伝子カスケードが別の遺伝子カスケードに組み入れられた具体的な過程を調べるため、*C.radiatum* の Pax 遺伝子が光受容タンパク質 opsin の遺伝子を直接制御するかどうかを調べた。ショウジョウバエでは、Pax 遺伝子は opsin を直接は制御せず、その間に多数の遺伝子ネットワークを介して間接的に制御していると一般的に考えられている。もし *C.radiatum* で、Pax の opsin に対する直接的な制御が確認できれば、1、真正後生動物の進化の過程で、opsin 遺伝子の調節領域が直接 Pax の支配下に組み入れられたこと、すなわち opsin による光受容という新たな機能を確認するため Pax が再利用されたこと、及び、2、左右相称動物の進化の過程で Pax と opsin の間に複雑な遺伝子ネットワークが組み入れられたことを支持する証拠となる。2は、左右相称動物におけるより複雑で高度な光受容器官の進化のための分子的基盤となった可能性がある。ゲルシフト法による解析の結果、派遣者らは PaxA タンパク質が opsin の上流領域に直接結合することを示した。すなわち、派遣者らの仮説は少なくとも *in vitro* で支持された。