

論文内容要旨

報告番号	甲 先 第 435 号	氏 名	中村 雄軌
学位論文題目	Evolutionarily conserved function of the <i>even-skipped</i> ortholog in insects revealed by gene knock-out analyses in <i>Gryllus bimaculatus</i> (フタホシコオロギの遺伝子ノックアウト解析によって明らかにされた昆虫におけるイーブンスキップド相同遺伝子の進化的に保存された機能)		
内容要旨			
<p>昆虫は、動物界最大の種数を持つ動物種である。昆虫の体節構造はボディプランの主要な要素であり、主な昆虫種の間で多様化している。長胚型発生様式のモデル昆虫であるショウジョウバエでは、体節形成における遺伝子メカニズムが明らかにされている。この体節形成遺伝子の中で、ペアルール遺伝子の一つである <i>even-skipped</i> (<i>eve</i>) 遺伝子は、ハイボモルフな表現型によって、胚の顎部から腹部領域における1つおきの体節形成に関わることが知られている。しかし、<i>eve</i> 遺伝子のヌル表現型によって解析された機能は、胚の顎部から腹部領域におけるすべての体節形成であり、ハイボモルフな表現型より機能が明確に示された。このように、遺伝子の機能解析をする上で、遺伝子の機能を完全に破壊した表現型による解析が重要である。しかしながら、ショウジョウバエ以外の昆虫の <i>eve</i> 相同遺伝子において、遺伝子的にヌルな表現型による機能解析はまだされていない。本研究では、長胚型より原始的な発生様式である中胚型の昆虫であるフタホシコオロギを用いて、遺伝子ノックアウトによる <i>eve</i> 相同遺伝子の機能解析を行った。さらに、異なる発生様式をもつ昆虫種間の体節形成機構を比較し、体節形成に関わる遺伝子のネットワークがどのように進化したかについて考察した。</p> <p>本研究では、clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR)/ CRISPR associated proteins 9 (Cas9) システムを用いて、<i>eve</i> ノックアウトコオロギ系統を作製し、その表現型を解析した。マイクロインジェクション法による Cas9 mRNA や一本鎖 DNA などの遺伝子導入と後代個体のゲノム DNA を使った変異解析を行い、8つの <i>eve</i> ノックアウト系統の作成に成功した。そのうち3系統では、遺伝子ノックアウトされたにも関わらず、顎部から腹部の数体節のみ欠損したハイボモルフな表現型胚が得られ、残りの5系統では、顎部から腹部のすべての体節が欠損し、胚の前後軸が短縮したヌル表現型胚が得られた。このヌル表現型胚では、これらの体節の境界構造やマーカー遺伝子の発現は見られなかった。しかし、ヌル表現型胚の顎部と胸部および腹部における Hox 遺伝子の発現は、胚の中央領域に検出され、野生型胚の発現と比較して、これらの遺伝子の発現位置関係が維持されていた。したがって、コオロギ <i>eve</i> は顎部から腹部領域における胚の伸長とすべての体節境界の形成に関与していることが明らかになった。また、中胚型のコオロギ <i>eve</i> のヌル表現型は、長胚型のショウジョウバエ <i>eve</i> のヌル表現型と類似しているため、本研究で明らかにされた <i>eve</i> 遺伝子の機能はコオロギとショウジョウバエの間で保存されており、昆虫において祖先的である可能性がある。少なくともこれらの昆虫の共通祖先の段階で、顎部から腹部領域における胚の伸長とすべての体節境界の形成に対する <i>eve</i> 遺伝子を含んだ祖先的な制御ネットワークが獲得されたと考えられる。</p>			