

学位論文要旨

Evolutionary developmental study on the regeneration of the hemichordate, *Ptychodera flava*

(半索動物ヒメギボシムシの再生に関する進化発生学的研究)

氏名 有本 飛鳥

発生と再生は、多くの動物で一般的に見られる形態形成イベントであり、近年の進化生物学的研究により、様々な動物の系統間で発生の分子的基盤が共有されていることが示されてきた。しかしながら、再生に関しては、成体器官の再生に着目した研究が多数報告されているものの、多くの動物門では幼生を介する間接発生が主流な発生型であり、蓄積の進んでいる発生の知見と照合することが困難であることから、広範囲の分類群で保存された分子機構の存在を検証する段階には至っていない。さらに、近縁種の間でも再生能の程度や再生過程の様態の違いが大きいことが珍しくないことも、統一的理解を妨げる要因となっている。

本研究では、発生と再生の分子機構の共通性と相違性を分子機構の側面から明らかにするため、高い再生能をもつ間接発生種のヒメギボシムシに着目した。間接発生をおこなうギボシムシを用いる利点は、成体のボディプランが幼生期のものをそのまま継承しており、変態の前後で大きな再編成が生じないというところにある。そのため、成体の再生過程において、その再生部位を幼生期の部位と容易に対応づけることができる。構造の再生が観察しやすい前方への再生を対象として、部位マーカー遺伝子を指標に、初期発生および変態における発現パターンと再生過程における発現パターンを比較することとした。本研究は以下の3部から構成される。

(1) 海産無脊椎動物を対象とした一般的な *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いると、変態期および成体組織において強い非特異的シグナルが検出され、染色が明瞭でなく、発現部位の特定が困難であった。したがって、ヒメギボシムシを対象として *in situ* ハイブリダイゼーション法の条件最適化を行っ

た。その結果、バックグラウンドノイズが明瞭に減少し、特異的シグナルの検出感度を格段に上げることができた。

(2) 前方端マーカー遺伝子は、初期発生から変態後まで発現パターンを一貫して検証した報告がない。多くの動物の幼生において頂部で発現することが知られており、直接発生型のギボシムシにおいて幼若個体の前方端での発現が報告されている *hedgehog* のオーソログを単離し、その発現パターンを各発生段階で調べた。その結果、幼生の形態がほぼ完成する後期原腸胚以降のステージで頂部と咽頭に発現が認められ、その発現は孵化から3ヶ月以上経過した変態期においても維持されていることが分かった。このことからヒメギボシムシにおいて *hedgehog* は、初期発生から成体まで一貫した前方端マーカー遺伝子と見なすことができる。続いて、再生過程において発現パターンを調べたところ、吻が再生してくる再生部位先端部での発現は認められず、口が再形成された後に咽頭部において発現が認められた。これらの結果から、*hedgehog* の発現は、発生と再生では異なることが明らかになった。

(3) 前方構造である開口部のマーカー遺伝子についても、同様に初期発生と再生で異なる発現パターンを示すのかどうか検証した。開口部のマーカー遺伝子としては、既に初期発生での発現パターンの報告がある *brachyury* や *foxA*, そして本研究で新たに明らかにした *gooseoid* を用いた。これら3つの遺伝子のうち、*gooseoid* ならびに *foxA* は初期発生の口形成と同様に再生時に発現が検出されたが、*brachyury* の発現は再生時には認められなかった。

以上のことから、ヒメギボシムシにおける前方構造の再生は、初期発生や変態時に用いられる分子機構が単純に再駆動されて引き起こされるわけではないことが示唆される。