

P133 アフリカツメガエル胚における頭部オーガナイザー遺伝子群の網羅的検索と発現パターンと機能解析
柴田幹土^{1,2}, 伊藤万里², 大森慎也², 信賀順^{1,2}, 平良真規^{1,2} (1 東大・院理・生物科学, 2CREST・JST)

アフリカツメガエル胚の前方内中胚葉領域 cDNA ライブラリーから、頭部オーガナイザー遺伝子を網羅的に検索した。ランダムに選択した 1039 クローンの部分的塩基配列を決定したところ、754 の独立クラスターを形成した。発現パターン解析を行った 198 のクラスターから、4 つの頭部オーガナイザー遺伝子が単離された。単離された遺伝子の一つは *Xenopus crescent* であり、frizzled 様ドメインを有する分泌性因子であった。*crescent* の発現は、Xlim-1, Ldb-1, Siamois によって協調的に上昇した。Crescent を背側に発現させると、頭部が拡大し、体軸が短縮した。Crescent と Noggin を腹側に共発現させると、異所的な頭部を誘導した。更に、Crescent は Xwnt-8 の活性を阻害した。以上のことは、Crescent が後方化因子としての Wnt を阻害することを示唆する。更に、Crescent は体軸伸長を阻害することから、Crescent は細胞運動に関わる Wnt もまた阻害する可能性が示唆された。

P134 LIM ホメオドメイン転写因子 Xlim-1 の負の制御因子 XRnf12/XRLIM の単離と機能解析

平谷伊智朗^{1,2}, 山本直子¹, 大森慎也^{1,2}, 平良真規^{1,2} (1 東大・院理・生物科学, 2CREST・JST)

我々はアフリカツメガエル初期胚においてオーガナイザー特異的に発現する LIM ホメオドメイン (LIM-HD) 蛋白質 Xlim-1 と LIM-HD 蛋白質の抑制因子と考えられている Rnf12/RLIM との機能的相互作用の可能性を調べるため、そのアフリカツメガエルオーソログ XRnf12/XRLIM を単離した。発現比較、in vitro 結合実験および mRNA 注入実験などから、XRnf12/XRLIM は Xlim-1 とその活性化因子 Ldb1 に対して負の制御を行い、背側中胚葉 (オーガナイザー) における Xlim-1 の転写因子としての活性の調節に関わっている可能性が示唆された。その抑制のメカニズムに関して現在解析を進めている。

P135 オーガナイザー特異的転写因子による脳誘導因子 Cerberus の遺伝子発現制御機構

山元進司^{1,2}, 小野裕史¹, 日笠弘基^{1,2}, 平良真規^{1,2} (1 東大, 院理, 生物科学, 2CREST・JST)

オーガナイザー特異的ホメオドメイン蛋白質 Xlim-1 の活性化型 (Xlim-1/3m) は頭部誘導因子 Cerberus の遺伝子発現を誘導することができることより cerberus は Xlim-1 の標的遺伝子と考えられた。そこで *cerberus* のプロモーター領域の解析を行った結果、1) 415 bp プロモーター領域は Xlim-1/3m による活性化、および胚の背側での特異的発現に十分である、2) -219/-116 領域の欠失、およびこの領域内の 3 つの TAAT 配列への点変異導入により、Xlim-1/3m および胚の背側での発現が消失する、3) ゲルシフトにより Xlim-1/3m がこれら TAAT コア配列に結合する、4) Xlim-1/3m はタンパク合成を介さずに *cerberus* を発現させることが明らかとなった。また、Xlim-1 と協調的に *cerberus* の転写を活性化する因子を検索したところ、Otx2, Siamois と Mix.1 との共発現により、レポーターおよび内在性 *cerberus* 遺伝子が協調的に活性化された。これらの結果は、オーガナイザー特異的因子 Xlim-1, Otx2, Siamois が Mix.1 と共に *cerberus* 遺伝子の背側内中胚葉での発現を制御し、頭部形成に関わっていることを示唆している。