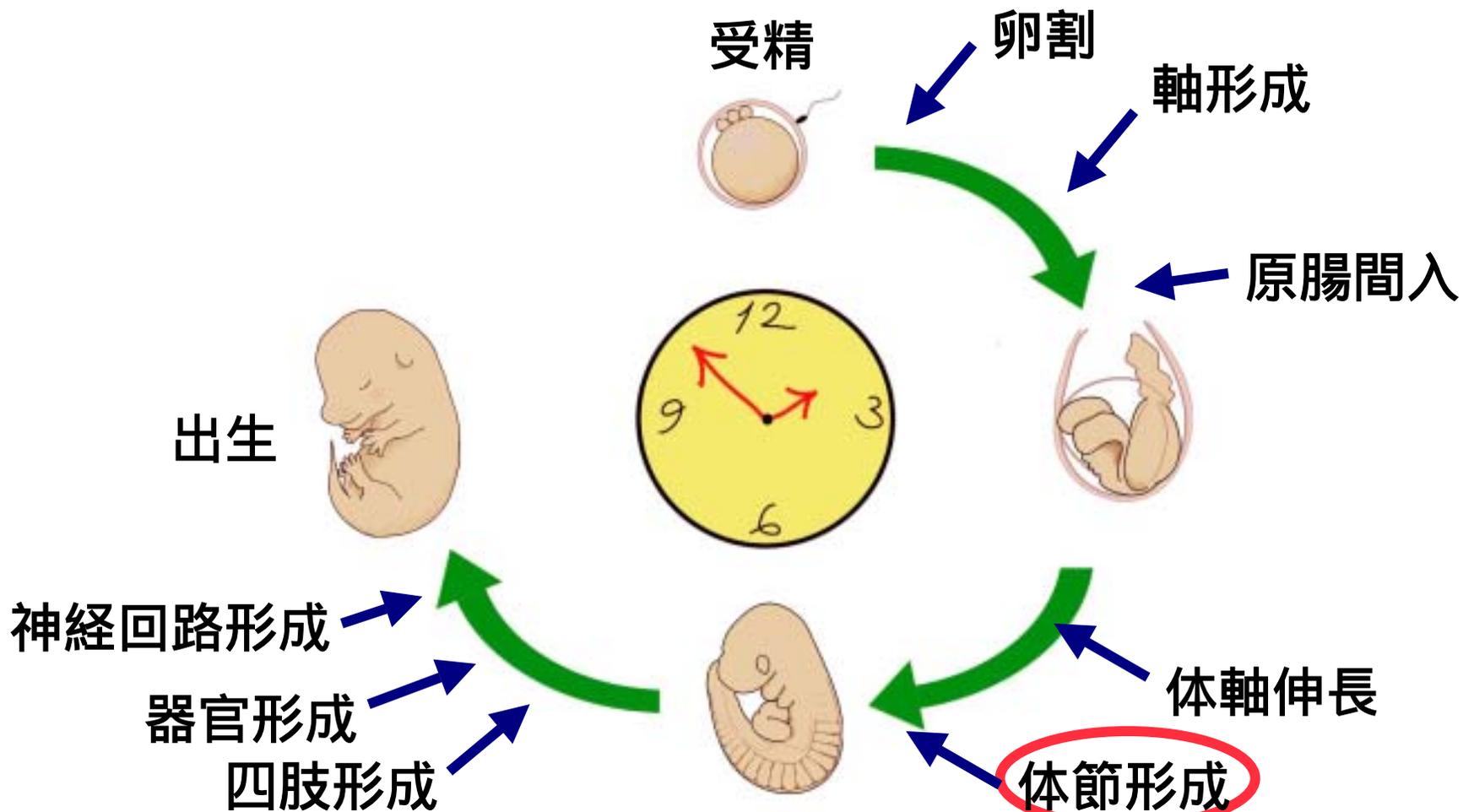


# 生物のかたちづくりを制御する分子時計のメカニズム

奈良先端科学技術大学院大学  
バイオサイエンス研究科  
遺伝子発現制御学講座  
別所 康全

生物のからだは**正確な**スケジュールにしたがって、**正確**につくられる。

生物はどのように**時間**を計っているのか？

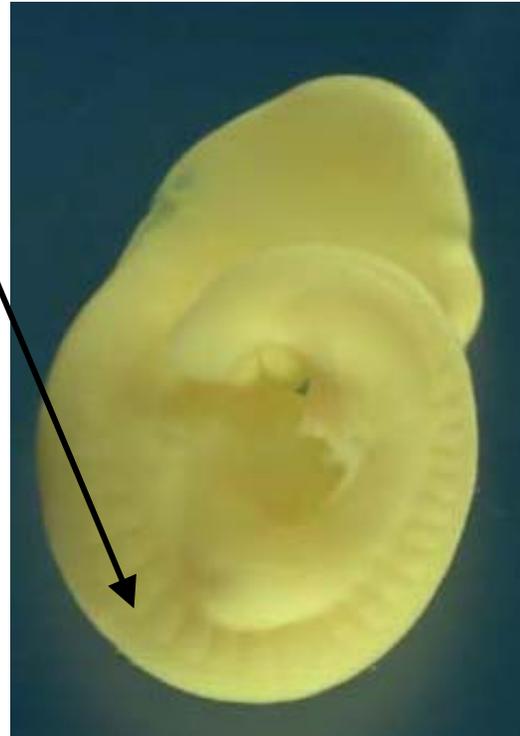


E8.5

体節

E9.5

E10.5, neurofilament

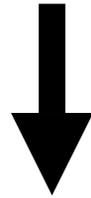


体節とは、発生中期に一過的に現れる細胞塊であり、**120分周期の分節化**によって**均等な大きさ**に形成される。

体節の**等間隔パターン**が前後軸の**繰り返し構造**をに変換される。

New born, skeleton

マウスの体節は周期的な分節化によってつくられる  
(その周期は120分)



体節の等間隔パターン

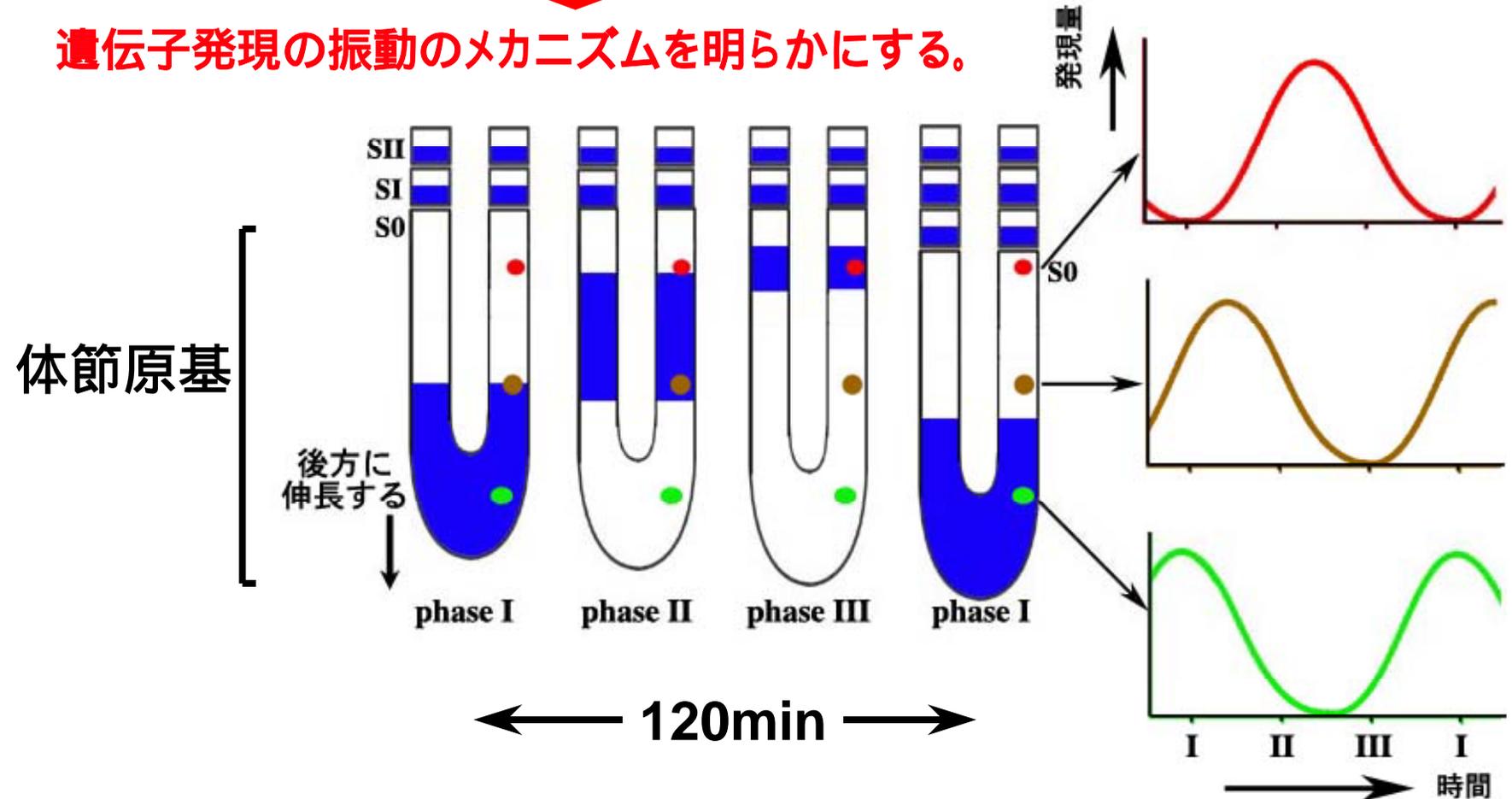
120分はどのように  
計られているか??

# 体節原基において遺伝子の発現が振動している。

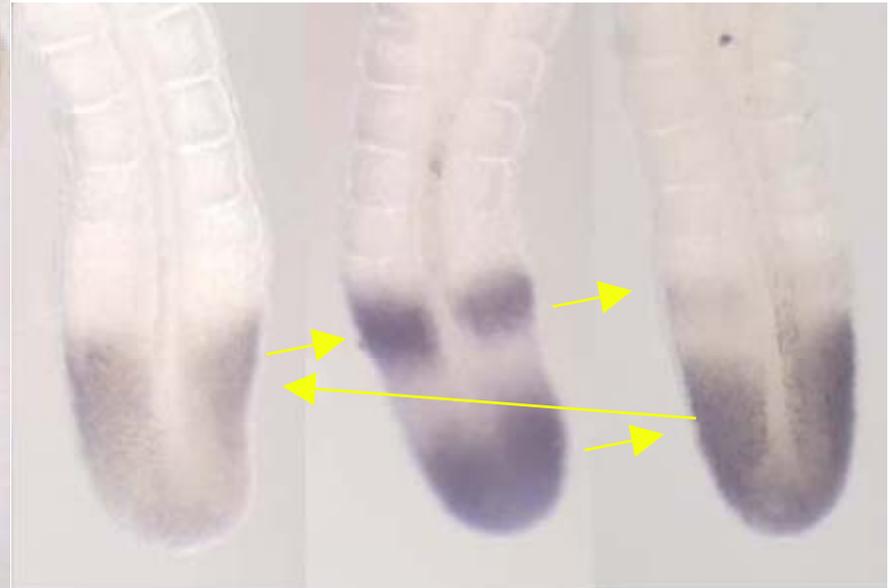
- 体節原基の一つ一つの細胞内で、いくつかの遺伝子の発現が120分周期で増減(振動)している。
- この振動を利用して、周期的な分節化がおこると考えられている。
- 細胞の位置によって周期がずれているために、波状の発現変化に見える。



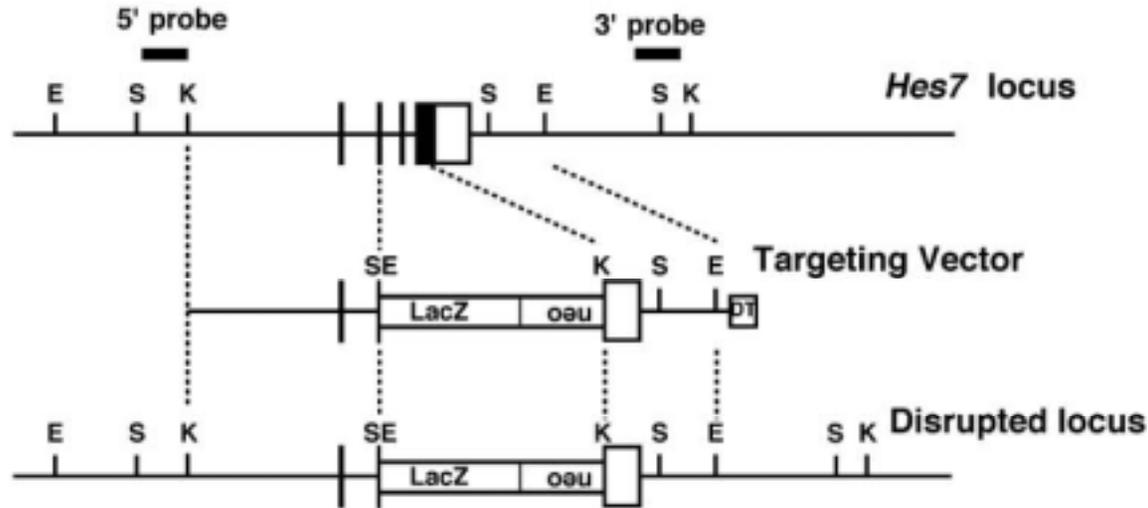
遺伝子発現の振動のメカニズムを明らかにする。



抑制性の転写因子Hes7の発現は体節原基に特異的に発現し、分節化周期に一致して**振動している**。

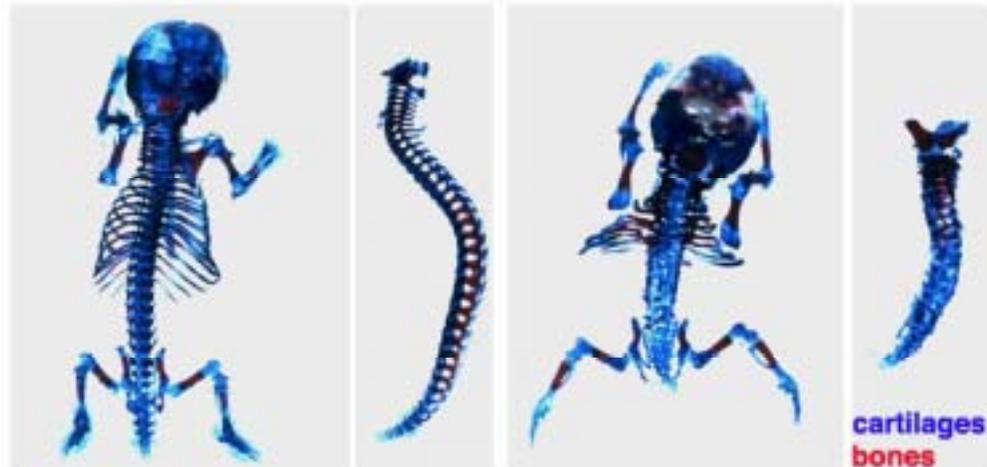


Hes7ノックアウトマウスは体節の等間隔パターンが崩れているために、背骨などの繰り返し構造が乱れている。

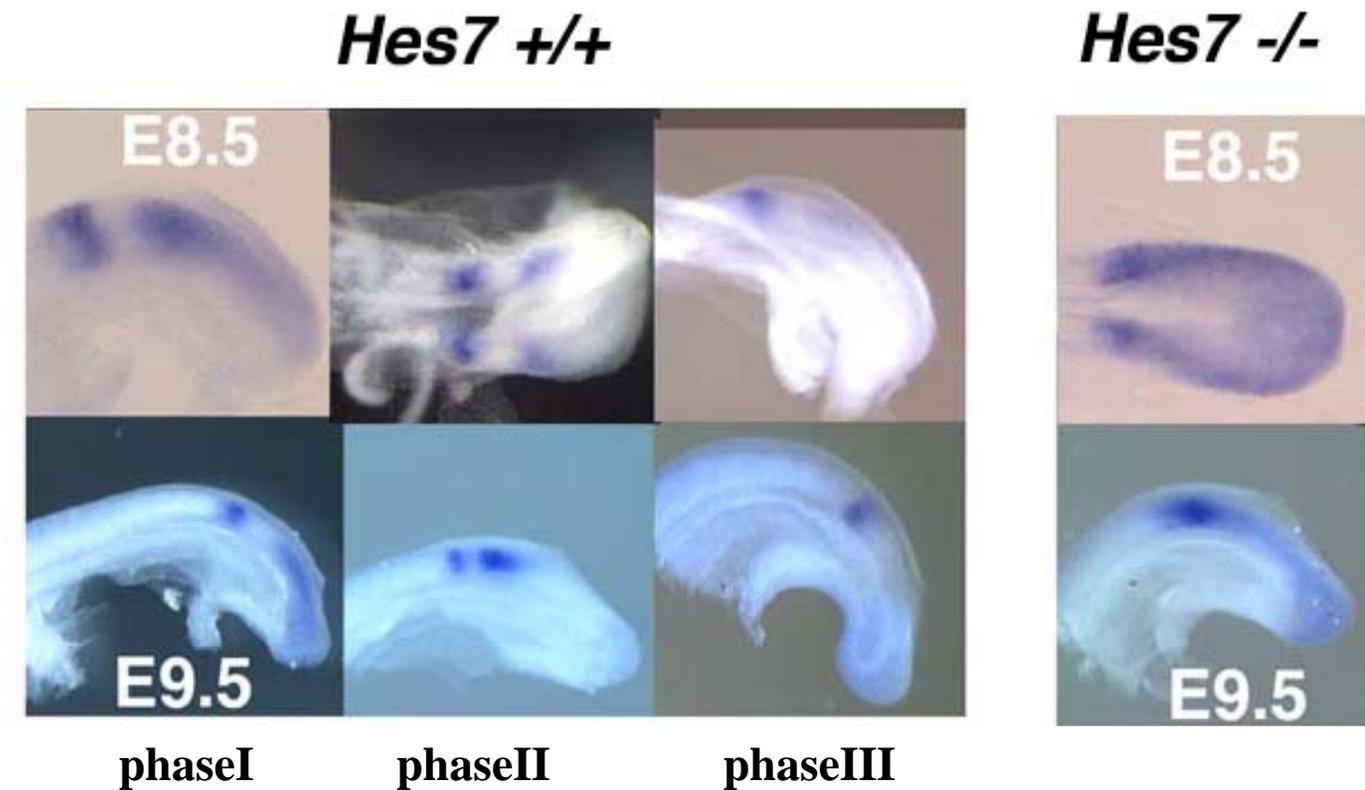


*Hes7* +/-

*Hes7* -/-



Hes7ノックアウトマウスでは**遺伝子発現の振動**が失われている。



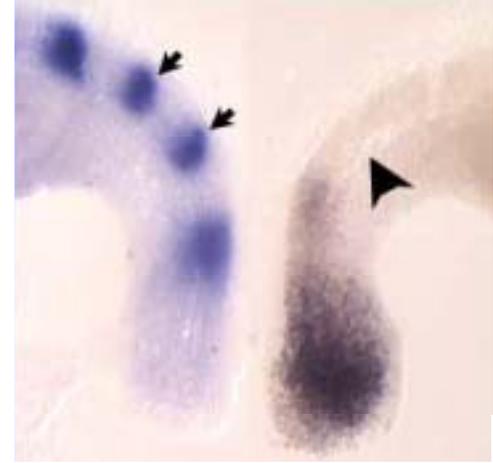
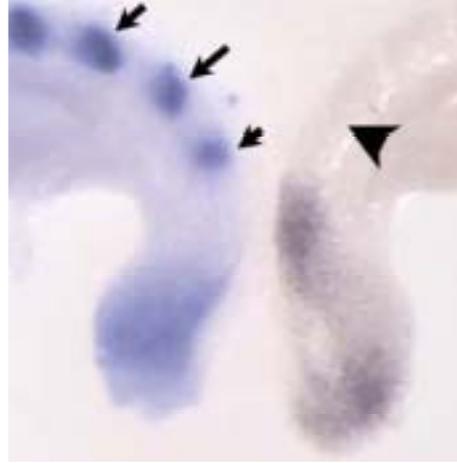
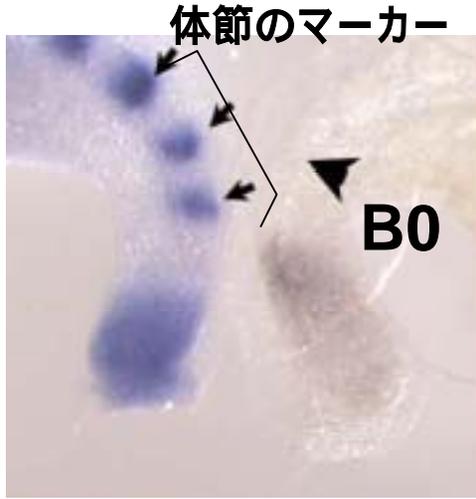
*Hes7* は周期的な分節化と遺伝子発現のオシレーションの両方に必要



***Hes7* は分子時計??**

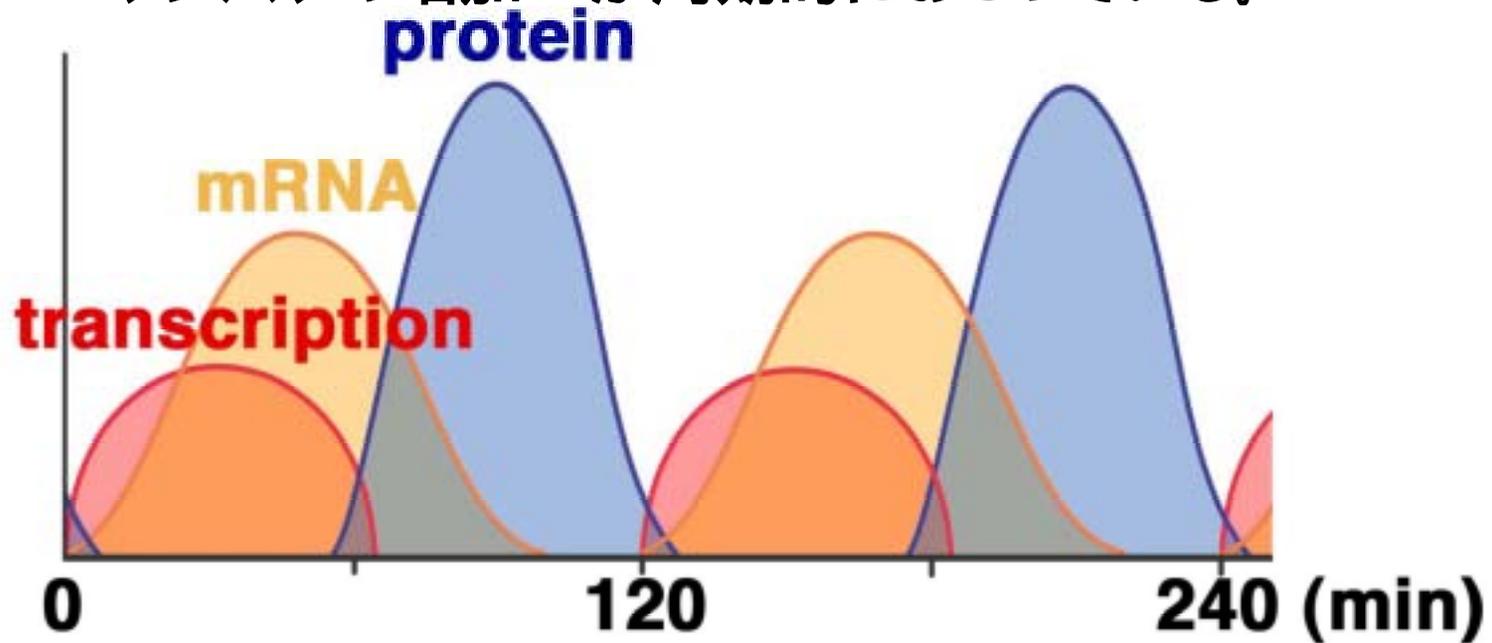
# Hes7 proteinが存在する部位では *Hes7*は転写されない

**Hes7 intron  
transcript**



**Hes7 protein**

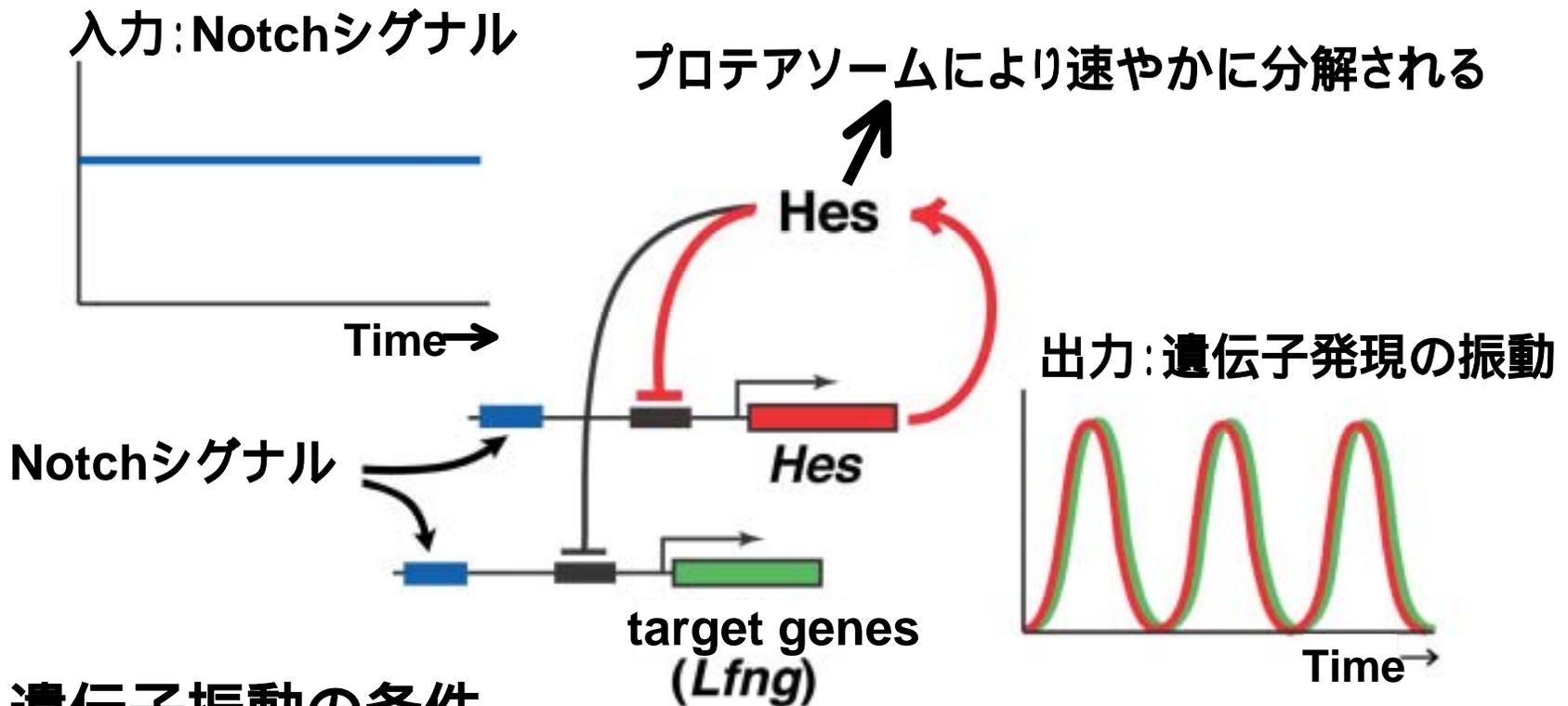
1 細胞内でHes7の転写の活性化 mRNAの増加  
タンパクの増加 が周期的におこっている。



転写因子であるHes7は**自身の転写を抑制**する活性がある。  
またHes7タンパクはの**寿命は非常に短い**。  
Hes7の転写が活性化され、Hes7タンパクが増えると転写が**OFF**になる。  
しかしHes7タンパクはすぐに分解されるため、転写は再び**ON**になる。

# 体節形成の周期性を支配する分子時計のメカニズム

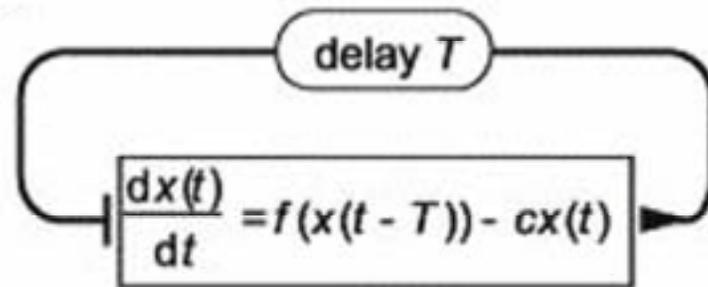
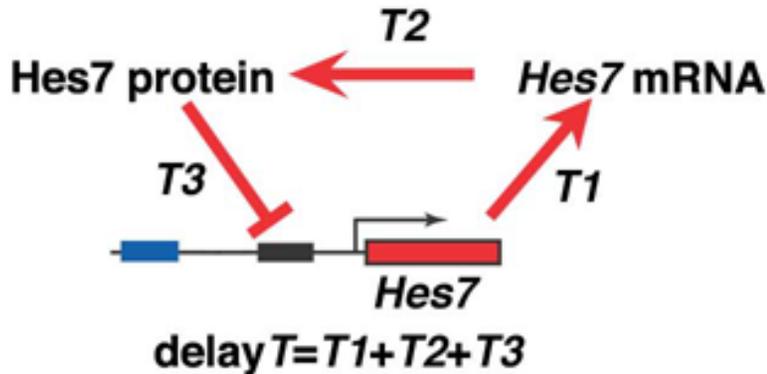
Notchシグナルによって活性化された抑制性転写因子Hes7が自身と標的遺伝子を周期的に抑制することによって遺伝子発現の周期性がつくり出される。



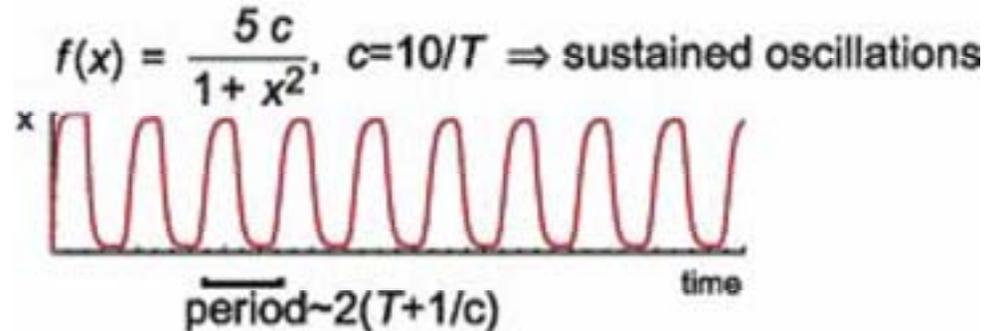
## 遺伝子振動の条件

1. 持続的なpromoterのactivation
2. delay timeを伴うnegative feedback loop
3. 速やかなタンパク分解

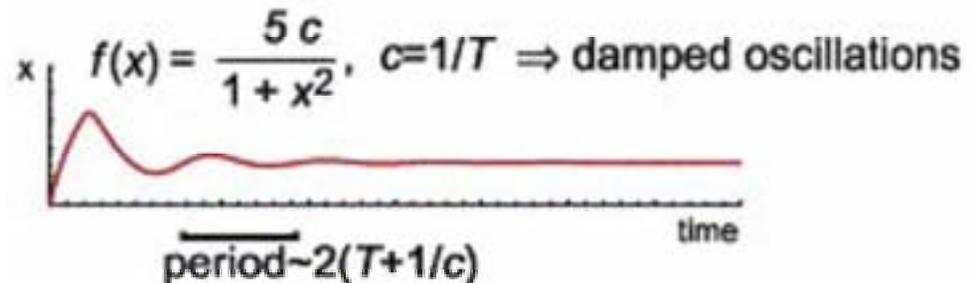
### 3. 速やかなタンパク分解、に注目する。 もしタンパクが少しだけ安定になったら？



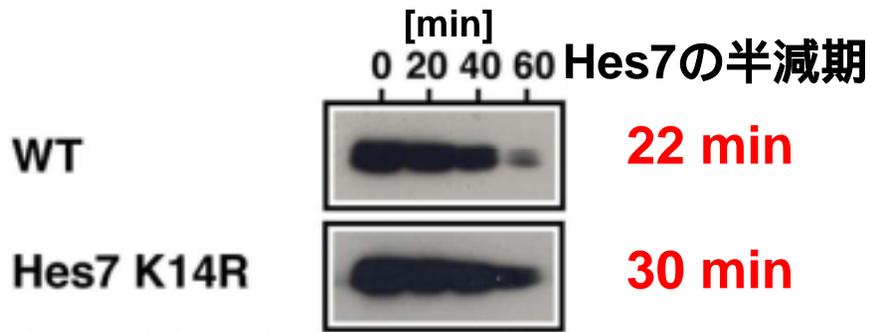
半減期が十分に短ければ  
安定した振動が得られる。



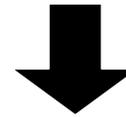
半減期が少しだけ長くなれば  
振動は途中で止まってしまう。



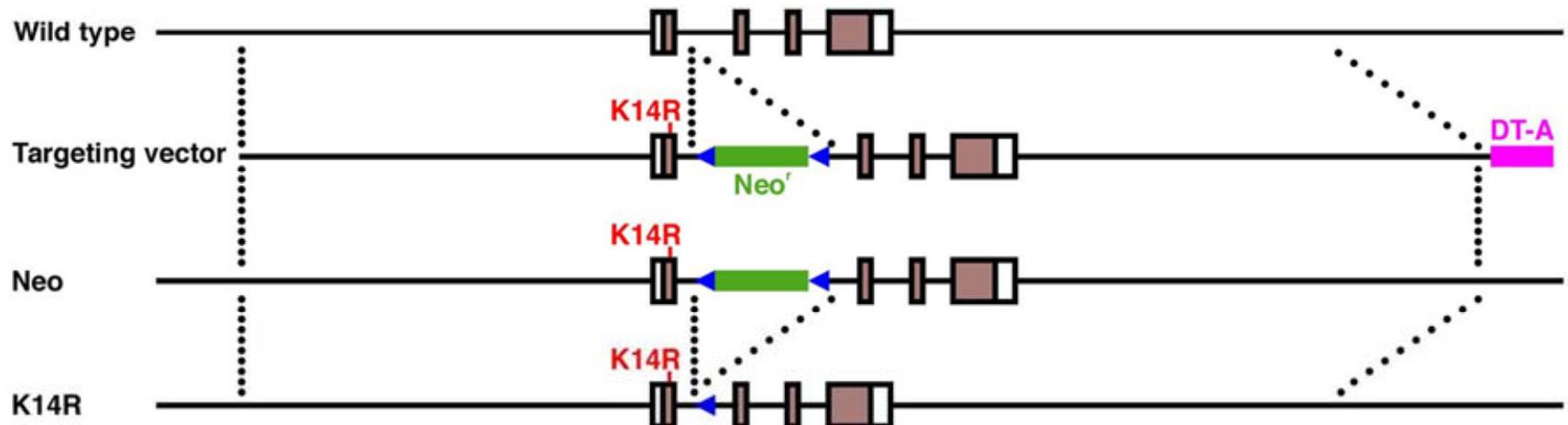
# 安定化したHes7を持つノックインマウスの作製



Hes7タンパクの14番目のリジン残基をアルギニン残基に置換すると少しだけ安定になる。



Hes7遺伝子を改変し、この変異Hes7を持つマウス個体を作製した。



野生型

*Hes7*  
118G/118G

*Hes7*  
-/-

A

B

C

8 体節期

(体節を染色する)

3 体節期

オシレーション  
遺伝子の発現

8 体節期

D

E

F

G

H

I

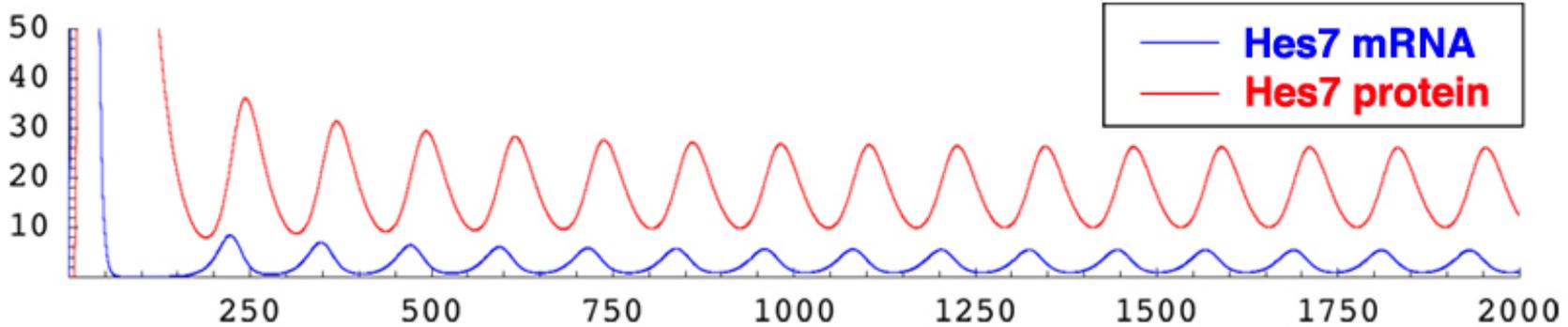
*Hes7*の安定性を少しだけ変える(半減期22分を30分にする)と遺伝子発現の振動が途中で止まり、規則的な体節は3つしかできなかった。

この結果はシミュレーションの結果とよく一致し、分子時計のモデルが正しいことを示している。

# シミュレーションの結果

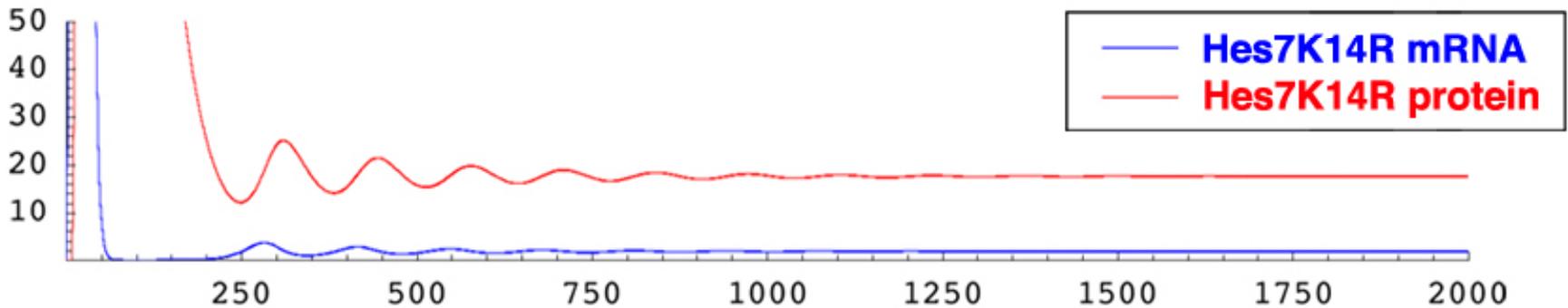
Hes7WT

protein half-life: 20 min; period: 121.4 min



Hes7K14R

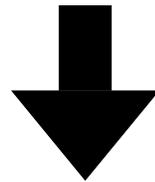
protein half-life: 30 min; period: 131.6 min



Hes7を安定化すると遺伝子発現の振動は3-4回で収束してしまう。  
これは安定化Hes7を持つノックインマウスの表現形とよく一致する。

## まとめ

- 転写因子Hes7のフィードバックループによって**遺伝子発現の振動**が作り出され、それが分子時計として体節の分節化周期を規定している。
- 分子時計の**時間的周期性**は等間隔パターンという**空間的周期性**に変換される。
- 体節の等間隔パターンに基づいて、脊椎骨などの**繰り返し構造**が作られる。



**分子時計によってかたちづくりが制御されている。**