

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	古代魚が獲得した魚の多産に関与する新規エンハンサーの解析		
研究テーマ (英文)	Analysis of enhancers that contributes to the prolific trait of teleosts		
研究期間	2019年～2020年	研究機関名 東京大学大気海洋研究所	
研究代表者	氏名	(漢字)	神田真司
		(カタカナ)	カンダシンジ
		(英文)	Shinji Kanda
	所属機関・職名	東京大学大気海洋研究所・准教授	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	藤森 千加
		(カタカナ)	フジモリ チカ
		(英文)	Chika Fujimori
	所属機関・職名	東京大学大気海洋研究所・特任研究員	

概要 (600字～800字程度にまとめてください。)

これまでの研究で、卵胞発育を司るホルモンFSHと、排卵を引き起こすホルモンであるLHが、四肢動物の脳下垂体において同一細胞、真骨魚類では別の細胞で発現する傾向に一般性を見いだしつつある。本研究ではこの進化上の変化が、エンハンサーの新規獲得によるという仮説の元に、別細胞型の種であるメダカのLHbおよびFSHb遺伝子(それぞれLH, FSHのβサブユニット遺伝子)上流配列に含まれるエンハンサーを用いて、同一細胞発現型の種であるマウスにトランスジーンとしてGFP/RFPを発現させる実験を行った。トランスジェニックマウスを作成する段階で、技術的な問題によりメダカFSHb-RFPは作成できなかったものの、メダカLHb-GFPマウスの樹立に成功した。しかし、成熟した個体を用いて凍結切片を作成し、解析したところ、脳下垂体にGFP蛍光は観察できなかった。したがって、メダカが新たに獲得した多産型のLHbエンハンサーがマウスの下垂体のどこで活性を持つのかは、本実験系では検証することができなかった。一方で、逆方向の検証、すなわち同一細胞発現型の種のエンハンサーを用いてGFPを脳下垂体に発現させるトランスジェニックメダカの実験には一部成功した。たとえば、LH、FSHが同一の細胞で発現するポリプテルスのFSHb上流配列でRFPを発現させるコンストラクトを導入したメダカは脳下垂体で強い蛍光を示した。FSH抗体、LH抗体を用い、このRFP蛍光を詳細に同定したところ、間違えなくFSH細胞であり、LH細胞はまったく標識されないことがわかった。すなわち、別細胞化した後も、FSHは元の細胞で発現していることを示している。ポリプテルスのLHb上流配列(3kb)を用いたGFPトランスジェニックメダカは作成したが、脳下垂体に蛍光は見られていない。現在より広い周辺配列を付加したコンストラクトをインジェクションしたメダカを作成している。

本研究により真骨魚類におけるFSH細胞が本来の起源を保っている可能性が強く示唆された。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題	Gonadectomy and Blood Sampling Procedures in the Small Size Teleost Model Japanese Medaka (<i>Oryzias latipes</i>)				
	著者名	Royan MR, Kanda S, Kayo D et al.	雑誌名	Journal of visualized experiments		
	ページ	E62006	発行年	2 0 2 0	巻号	166
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Based on a hypothesis that teleosts acquired novel enhancer to distinctly express LH in the pituitary, we examined enhancer activities of teleost LH and FSH by generation of transgenic mice possessing teleost LH and FSH flanking regions and GFP/RFP.

Although enhancers of teleosts failed to induce GFP in the pituitary of mice, additional experiment that aimed to examine enhancer activities of FSH/LH in species that co-express FSH and LH gave an insightful result. By examination of FSH enhancer activity of an ancient fish whose FSH and LH are co-expressed, we found that FSH enhancer induced expression of RFP in FSH but not in LH cells in medaka whose LH and FSH are exclusively expressed. This result strongly supports the hypothesis that LH cells are newly acquired gonadotroph whereas FSH cells are original gonadotroph in teleosts.

共同研究者	氏名	(漢字)	高田修治	
		(カタカナ)	タカダシュウジ	
		(英文)	Shuji Takada	
	所属機関・職名		国立研究開発法人 国立成育医療研究センター研究所 システム発生・再生医学研究部・部長	
	氏名	(漢字)	木村 敦	
		(カタカナ)	キムラ アツシ	
		(英文)	Atsushi Kimura	
	所属機関・職名		北海道大学大学院理学研究院 生物科学部門・准教授	
	氏名	(漢字)	寺尾 美穂	
		(カタカナ)	テラオ ミホ	
		(英文)	Miho Terao	
	所属機関・職名		国立研究開発法人 国立成育医療研究センター研究所 システム発生・再生医学研究部・研究員	
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				