

## 真骨魚類独自に分岐した *nebulin superfamily* の役割

寺崎朝子（千葉大学 大学院理学研究院）

アクチン系細胞骨格は単細胞生物の移動や多細胞生物の筋収縮など様々な動物の運動に必須である。ヒトの *nebulin* リピートを持つアクチン結合タンパク質 (*nebulin superfamily*) は、*LIM and SH3 protein 1 (lasp-1)* をコードする *LASP1*、*lasp-2* と *nebulette* をスプライシングによって生じる *LASP2/NEBL*、*nebulin-related anchoring protein (N-RAP)* をコードする *NRAP*、*nebulin* をコードする *NEB* の 4 遺伝子 5 タンパク質が存在する。これらは異なる組織で発現し、葉状仮足、糸状仮足、インテグリン細胞基質間接着、Z 線などアクチン系細胞骨格に関連した多様な細胞内局在を示す。

脊椎動物の進化の過程では 2 回の全ゲノム重複が起き、重複した遺伝子の一部は偽遺伝子化するが、一部は機能が多様化しており、これが複雑な体制の構築に寄与していると考えられている。申請者は真核生物のゲノムや mRNA 配列を網羅的に調べ、無脊椎動物には *nebulin superfamily* の祖先タンパク質と思われる *lasp* (リピート数 2 個) が 1 種類のみ存在する事から、脊椎動物に進化する過程で *LASP* が 4 遺伝子に分岐して異なる機能を持つようになったという仮説を提唱した (Terasaki et al., 2008; Fujita et al., 2022)。

3 回目の全ゲノム重複を起こした真骨魚類は、さらに重複した遺伝子が魚類の種分岐に影響していると考えられている。メダカ (*Oryzias latipes*) では *LASP1* が *OI LASP1A* と *OI LASP1B* に分岐し、それ以外の重複遺伝子は全て片方が消失している。ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) では *Dr LASP2/NEBL* と、*nebulette* の exon が消失して *lasp-2-like* のみを発現する *Dr LASP2L* が残り、どちらも脳で発現している。*Dr lasp-2* と *Dr lasp-2-like* はニワトリ繊維芽細胞に導入するとアクチン系細胞骨格に局在し、組換えタンパク質はアクチン結合活性を持つが (Morimoto et al., in preparation)、中枢神経系における両者の機能的な違いは明らかとなっていない。

魚類の神経細胞やアストロサイトの神経組織内の形態は鳥類や哺乳類に類似していることから、本研究では培養条件が確立されているニワトリの神経細胞および中枢神経系の主要なグリア細胞であるアストロサイトに *Dr lasp-2* と *Dr lasp-2-like* を導入し、局在や形態に及ぼす影響を比較する。発生期の神経細胞の軸索先端に形成される成長円錐の運動やシナプス形成時の細胞間の連結にはアクチン系細胞骨格が関与しており、アストロサイトも分枝表面のアクチン系細胞骨格を含む微小突起である PAP (peripheral/perisynaptic astrocyte process) を介して神経細胞や血管に接触して神経ネットワークを制御している。また、申請者は従来の培養条件では繊維芽細胞様に変化するアストロサイトを生体内に近い形態に分化させる培養条件を確立している (Tsukuda et al., Zoological Science 2019)。さらに、微細構造を維持しながら蛍光タンパク質ベクターを培養細胞に導入する条件を初めて確立し、ニワトリ (*Gallus gallus*) の *Gg lasp-2* がアストロサイト PAP や分枝先端部の細胞基質間接着に局在する事を明らかにしている (Ikoma et al., 2026)。そこで、*Dr lasp-2* と *Dr lasp-2-like* が神経細胞やアストロサイトで同様の局在を示すのか、過剰発現をさせた時に神経細胞の軸索伸張、アストロサイトの分枝の伸長、および PAP の形成にどのような影響を及ぼすのかを解析する。また、*in situ hybridization* でゼブラフィッシュの脳内における *Dr lasp-2* と *Dr lasp-2-like* の発現領域を比較する。