

2. 脊索動物と節足動物の共通祖先を理解する

小田広樹（主任研究員）、秋山-小田康子（派遣研究員）、
岩崎佐和（奨励研究員）、野田彰子（研究補助員）、
西口茂孝（大阪大学大学院生）

2-1 オオヒメグモの胚発生を支配する分子メカニズムの解明

はじめに

多細胞動物は形態や発生様式に基づいて「門」と呼ばれる高次分類群（例えば、ヒトを含む脊索動物門や昆虫を含む節足動物門）に区分されている。それぞれの動物門の動物は機能性の高い、安定した形態的特徴を持っており、例えば、節足動物は節くれ立った外骨格を共通して持つ。ところが、たとえ似たような形態であっても、卵の形や、発生過程の細胞の振る舞い、細胞の系譜、遺伝情報の使われ方などを見ると、種によって様々に異なる過程を経てその形態的特徴が形作られていることが分かる^{1), 2), 3)}。このことは、形態形成を制御する遺伝的システムが進化の過程で変化しやすいことを意味しており、選ばれた少数種の比較解析だけでは、動物進化の過程を復元することが難しいことを示している。

本研究は、節足動物門をひとつの高次分類群のモデルとして、この困難を克服することを目指している。そのために2つの方向性を持つ。ひとつは、ゲノムを土台とした解析により、節足動物の祖先的状态を探究すること。“祖先的”とは、太古の昔から変化を受けていない状態のことであり、研究が進んでいる脊索動物門との比較を取り入れて、変化を受けていない形態形成のメカニズムを見出す努力を行う。もうひとつは、数理を土台とした解析により、形態形成システムの進化の可能性を探究すること。定量的データの取得を可能にする枠組みを構築して、コンピュータ上での進化実験に結びつける努力を行う。私たちは、この二つの方向性を両立させる実験材料として、オオヒメグモのモデル生物化を進めてきた。本年度、国際的な研究者の協力関係のもとに行ったオオヒメグモのゲノム配列の解読を論文として報告することができた⁴⁾。オオヒメグモを用いてゲノムを土台とした解析ができる環境が整った。

動物胚には、細胞外に分泌されるシグナル分子を介して、広い均一な細胞場にパターンを作り出す仕組みがある。そのような仕組みを担うシグナル分子のひとつとして、ヘッジホッグシグナルが知られているが、このシグナルはとりわけ脊椎動物で解析が進んできた。その大きな理由のひとつに、脊椎動物における四肢パターン形成や神経管パターン形成のような、ヘッジホッグシグナルが大きな役割を果たす魅力的なパターン形成現象が無脊椎動物モデルにほとんど見当たらなかったことが挙げられる。しかし、私たちはこれまでのオオヒメグモの研究で、ヘッジホッグシグナルがクモの初期胚の体軸形成及びその後の体節形成に極めて重要な役割を果たしていることを明らかにしており^{5), 6)}、オオヒメグモの実験研究には、ヘッジホッグシグナルを介したパターン形成システムが、節足動物と脊椎動物の共通祖先でどのようなメカニズ

ムを持ち、どのような役割を果たしていたかを議論することのできる貴重な機会があると言える。

オオヒメグモの胚発生において、ヘッジホッグシグナルの有無は胚盤の半径に沿った方向(胚の前後に対応)のパターンに決定的な影響をもたらす⁵⁾。私たちは昨年度までに、オオヒメグモのゲノム情報を活用して、ヘッジホッグシグナルに支配される遺伝子の解析及び、ヘッジホッグシグナルを介したパターン形成に影響を及ぼす可能性のある遺伝子の解析を行ってきた。本年度その2つの解析を押し進めた。それにより、胚盤パターンがどのように次の発生段階の体節パターンに結びつくかと、胚盤パターンに影響を与える初期の因子が明らかになってきた。また、私たちのオオヒメグモの研究の第二の方向性を推進するために、固定胚の染色から得た以前の定量データの再解析を行い、分裂と振動からなる周期的パターン形成動態を定量的に特徴付けた。以下に、本年度のこれらの進捗状況を報告する。

結果と考察

(1) クモ初期胚のパターン形成に関与するヘッジホッグシグナル支配下遺伝子のゲノムワイドな探索

オオヒメグモ初期胚ではヘッジホッグシグナルが直交する2つの体軸の形成と前後軸に沿ったパターンの形成を制御する⁵⁾。昨年度までに parental RNA interference (pRNAi)と RNA sequencing (RNAseq)を組み合わせた方法を用いてヘッジホッグシグナルにより制御を受ける遺伝子をゲノムワイドに探索し、この探索により同定した遺伝子の1つ *msh* が体節ごとの繰り返しパターンの形成に関わることを示唆するデータを得た。本年度は *msh* 遺伝子を研究の中心に据え、ヘッジホッグシグナルの制御により胚盤に生じる同心円状の前後パターンがどのように繰り返しパターンへと発展するかを解析した。

msh 遺伝子はヘッジホッグシグナルにより発現抑制を受ける遺伝子であり、ヘッジホッグが発現する胚盤の周縁(将来の頭部)から最も遠い胚盤の中心領域(将来の尾部)で発現を開始する。*msh* の発現を、時間を追って解析したところ、発現は胚盤の半分以上の領域に広がる大きな波のように挙動することを発見した(図1)。胚盤の中心から *msh* の発現領域が拡大するのにつれて、発現領域の中心に *msh* ネガティブな領域が現れ拡大する。胚盤から胚帯への形態変化が起こると、*msh* の発現領域は形成されつつある胚帯の中間領域に位置するようになり、さらに3本のストライプに分裂した。これは3つの胸部体節 L2, L3, L4 に相当する。これまでの細胞標識の実験で、発生初期に胚盤の上皮細胞シートの中心領域に存在していた細胞は位置を大きく変えることはなく、胚帯への変換後も尾部領域にとどまることが分かっている。つまり *msh* の発現は形態形成する上皮シート上で、胚盤中心領域に存在する細胞から隣の細胞へと波のように伝播し、胸部体節を形成する細胞領域まで広がり分裂することが分かった。発現が同様に波のような挙動を示す遺伝子が複数見つかったが、おもしろいことに胚盤期の発現領域の広がり具合と、どの胸部体節に発

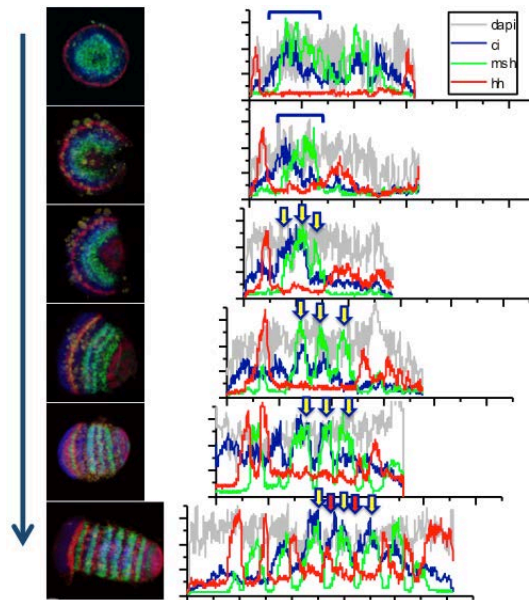


図1. *msh* 遺伝子(緑)の発現変化。胚盤から胚帯への変換後も尾部領域にとどまることが分かっている。つまり *msh* の発現は形態形成する上皮シート上で、胚盤中心領域に存在する細胞から隣の細胞へと波のように伝播し、胸部体節を形成する細胞領域まで広がり分裂することが分かった。発現が同様に波のような挙動を示す遺伝子が複数見つかったが、おもしろいことに胚盤期の発現領域の広がり具合と、どの胸部体節に発

現が落ち着くかが対応しているようであった。

胚盤の中心に由来する将来の尾部に相当する領域、尾葉では、後体部の体節形成に関わる遺伝子発現の波があることを、別に行っている解析で示してきた（下記(3)参照）。このとき尾葉の各細胞では遺伝子発現が振動していることになる。ヘッジホッグや *msh* 遺伝子自身も尾葉で波の発現を示す。この波は、上記の胸部体節を形成する大きな第1の波に引き続いて起こる。尾葉で波の発現を示す既知の遺伝子や、*msh* pRNAi と RNA seq の組み合わせ実験により新たに同定した遺伝子は、重なり合いながら異なる位相で発現した。*msh* に対する pRNAi や embryonic RNAi を行うと、胚盤の中心に由来する細胞で胸部の第1の波として振る舞うべき遺伝子発現がその場で継続し、次に発現すべき遺伝子の発現も起こらない、つまり、後部体節の形成に関わる波の開始が妨げられた。この結果から、*msh* はそれ自身の発現も波としての振る舞いを示しながら他の遺伝子の発現を正または負に制御し、体節形成に関わる遺伝子発現波の形成と動態を制御する役割をもつと考えられた。

msh pRNAi により胚盤の中心で発現し続ける遺伝子にヘッジホッグシグナルの転写因子である Ci が含まれている。また尾葉での *msh* とヘッジホッグの発現の波は相補的なパターンを示す。さらに、頭部体節形成のヘッジホッグのストライプの分裂時にも、*msh* の発現は分裂に先立ってヘッジホッグのストライプの中央部に検出され、ヘッジホッグの発現を負に制御することが分かってきた。分子ネットワークの中で *msh* はヘッジホッグシグナルと密接な関係があり、この関係性が胚盤の同心円状のパターンから体節パターンへの発展に重要な役割を果たしていると考えられた。

(2) 胚盤形成期胚におけるパターン形成遺伝子のゲノムワイドなスクリーニング

オオヒメグモ胚盤形成期（発生ステージ 3, st3）のパターン形成に関わる遺伝子を明らかにするため、このステージの胚の領域特異的に発現する遺伝子を網羅的に探索し、機能解析を行った。前年度までに、胚盤の前後軸に沿ったパターン形成異常による表現型を示す 3 遺伝子 *g26874* (*Gata* 様遺伝子), *g4238* (*Ets* 様遺伝子), *g7720* (*Snap* 様遺伝子) を同定した。本年度はこれらのうち *in situ* ハイブリダイゼーション(以下 *in situ*) により st3 において明確な領域特異的発現パターンを示した *g26874*, *g4238* について詳細な発現時期の特定及び機能解析を進めた。

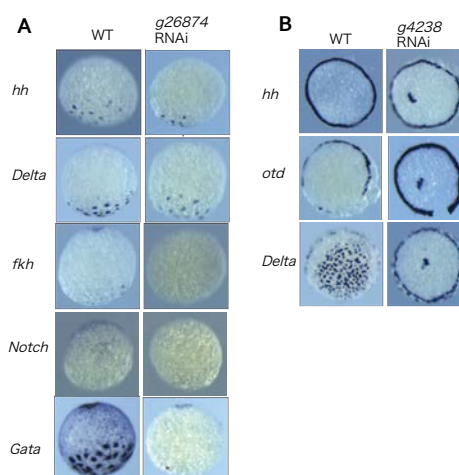


図 2. pRNAi により影響を受ける遺伝子. A. *g26874*(*Gata*) B. *g4238* (*Ets*) の結果

g26874 (*Gata* 様遺伝子)は *Gata* ファミリーに属することから、転写因子として下流の多くの遺伝子に影響を及ぼしていることが考えられた。そこで *g26874* の RNAi によって発現パターンが変化する遺伝子を RNAseq の手法を用いて網羅的に調べた。RNAi 注射前のコントロールと RNAi 注射後約 20 日の表現型を示す胚について、それぞれ st2, 3, 5 を採取し、ライブラリを作製、Miseq シーケンシングを行い、発現変動遺伝子を検出した。その結果、st2 では 16 遺伝子、st3 では 224 遺伝子、st5 では 1036 遺伝子が影響を受けることが明らかになった。st2 で影響を受ける遺伝子の多くは母性遺伝子、st3 で影響を受ける遺伝子の多くは胚性遺伝子であった。RNAseq の結果及び *in situ* の結果から、*Gata* は *hh*, *Delta*, *fkh*, *Notch* 等の主要なシグナル因子、転写因子に影響を及ぼしていることが分かった (図 2A)。

g4238 (*Ets* 様遺伝子)の RNAi 胚では *hh*, *otd* の異所的発現を示す個体や *Delta* の発現パターンに大きく影響のある個体が観察されたことから (図 2B)、*g4238* が *hh* の発現を局所的に抑制している可能性が考えられた。現在、異所的発現の時期や発現領域を詳細に特定するための解析を行っている。

さらに、*g26874*, *g4238* の領域特異的な偏りがいつから生じているのかを明らかにするため、発生 st2 から 3 にかけての *in situ* を行った (図 3)。その結果、*g26874* mRNA は胚の形態的な非対称が生じるより前に既に偏りを持って発現していることが分かった。この結果はオオヒメグモ胚のごく初期に分子的な偏りが存在していることを示唆しており、非昆虫の節足動物では未だ報告されていない新しい知見である。一方、*g4238* では形態的な非対称が生じる時点では既に偏って発現していることが示されている。発生ごく初期 (st1-2) のオオヒメグモ胚は固定が難しく、また分子的な非対称が生じている位置を正確に評価する指標が知られていない。今後、初期胚の固定条件と発現領域の評価方法を再検討していく予定である。

(3) オオヒメグモ胚における周期的パターン形成動態の定量解析

オオヒメグモ胚の表面に露出する上皮

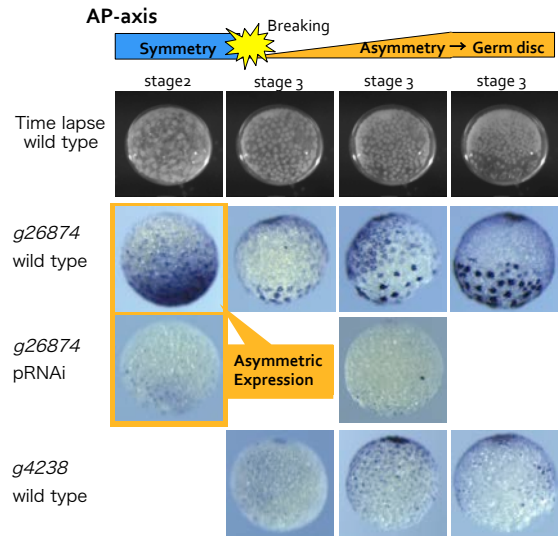


図 3. 形態的な非対称が生じるより前に *g26874* の分子的な偏りが存在する。

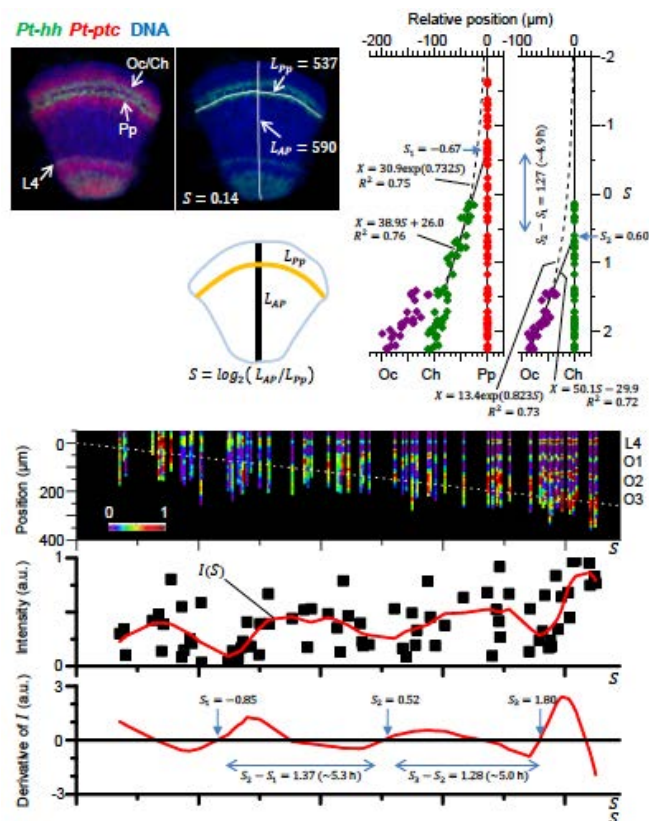


図 4. パター形成動態の定量解析

細胞のシートでは軸形成と軸伸長に伴って、体節形成に関連した、空間周期性のある縞パターンが形成される。私たちはこれまでに、胚の予定頭部領域と予定後体部領域でヘッジホッグ遺伝子の発現が時間的反復性のある、異なる動態を示すことを明らかにしてきた。その動態は予定頭部領域では分裂であり、予定後部領域では振動である。本年度、この動態を定量的に特徴付けるために、2013年度の報告書に報告した兄弟胚の染色から得たデータセットを定量解析した。胚領域の前後軸方向と背腹軸方向の長さの比 (L_{AP}/L_{PP}) の対数で定義される、軸成長の度合いを反映した S インデックス(図4) と胚の固定した時間 (T) が線形関係 ($S=0.257T-2.94$ 、 $R^2=0.93$) を示したことを利用して、それぞれのパターン形成周期を見積もった。予定頭部領域において、ヘッジホッグの発現ピークの中心位置をプロットし、分裂で分離し、広がるピーク間の距離を線形外挿して2回の分裂の開始点を推定し、その差から1回目の分裂の周期が約4.9時間 ($1.27/0.257$) であると見積もられた(図4)。一方、予定後体部領域では、ヘッジホッグの発現が変化する後端部を貫くように設定した直線に沿って、各胚で正規化されたヘッジホッグのシグナル強度を抽出し、スムージングによってシグナルの強弱変化を見積もった。その結果、 S が-0.85、0.52、1.80のポイントでシグナルの極小点が検出され、それらの差から01のストライプを生む発現振動周期が約5.3時間、02のストライプを生む発現周期が約5.0時間であると見積もられた(図4)。非常に粗い推定ではあるものの、共通のデータセットで異なるパターン形成動態が同等の周期をもっていることが示されたことは今後のモデリング解析にとって貴重な情報となるであろう。

おわりに

本年度の研究により、クモ胚の体軸に沿ったパターン形成にヘッジホッグシグナルがどのように関わっているのかが、体軸の最初の極性が現れるところから空間的反復性が築かれるところまでの過程をカバーする形で見えてきた。個々の細胞が追跡可能な、シンプルな細胞場でヘッジホッグシグナルを介したパターン形成が進行することはオオヒメグモ胚の最大の特徴であり、脊椎動物のパターン形成システムとの比較を容易にする。クモ胚にパターン形成システムの祖先性を見出すことができるかは全く確約されたことではないが、本年度の研究成果を元に、冒頭で述べた2つの研究の方向性を今後も推進したいと考えている。

2-2 カドヘリンの構造と機能の解析

はじめに

多細胞動物は、細胞と細胞を連結する微細構造(ジャンクションと呼ぶ)を持ち、ジャンクションを巧みに操ることによって体の形を作り上げる。ジャンクションには微細形態と機能によって何種類かのタイプが知られており、その中でもアドヘレンスジャンクションは多細胞動物で最も広い系統分布を示すジャンクションで、形態形成に最も密接に関わっていることが知られている^{7), 8)}。アドヘレンスジャンクションの主要な接着分子はクラシカルカドヘリンである。クラシカルカドヘリンは、異なる細胞で発現する同種の分子が互いに認識し、結合することによって、細胞の自己組織化に関わる。組織では、各細胞内で作用する張力がカドヘリンを介して細胞間で伝達され、その力学的相互作用によって形態形成運動が駆動されると考えられている^{9), 10)}。

クラシカルカドヘリンは共通の構造要素を持つものの、その細胞外領域において、多細胞動物の系統間で大きな多様性が存在する^{8),11)}。細胞外カドヘリンドメイン (EC) と呼ばれる繰り返し構造はナメクジウオでの例外を除いて、すべてのクラシカルカドヘリンで共通して見られるが、その EC ドメインの数はカドヘリンのタイプによって異なる。脊椎動物のタイプ I とタイプ II カドヘリンは 5 個の EC を持ち、昆虫類や鰓脚類の上皮組織で働くタイプ IVa カドヘリンは 7 個の EC、軟甲類で見つかったタイプ IVb カドヘリンは 9 個の EC、節足動物を含め他の左右相称動物に広く分布するタイプ III カドヘリンは 17 個の EC を持つ。EC の数だけでなく、膜貫通領域 (TM) に近い細胞外領域のドメイン構成にも多様性がある。タイプ I / II では 5 番目の EC (EC5) が直接 TM に接続しているが、タイプ IVa/IVb とタイプ III ではシステインに富む EGF 様のドメイン (CE) やラミニン様のドメイン (LG) が EC と TM の間に介在する。タイプ IV とタイプ III の間でも CE と LG の数に違いがある。

それではクラシカルカドヘリンの細胞外領域の多様性はどのように進化してきたのか？ 私たちの研究は、この問題を説明するひとつの法則性を見出してきた。その法則性とは、それぞれの動物系統においてより進化したカドヘリン分子が短縮化した状態にあること、つまり、左右相称動物の間では分子長の長いタイプ III カドヘリンが祖先型であり、その分子長の長い状態からドメインの欠失によって、脊椎動物のタイプ I / II や昆虫類/甲殻類のタイプ IVa/IVb が進化してきたことである。本年度論文発表した節足動物を中心としたゲノム解析では、最初の節足動物が誕生して以降にタイプ III カドヘリンから段階的な欠失を経てタイプ IVb、そしてタイプ IVa のカドヘリンが進化したことが示唆された¹²⁾。私たちはこの分子進化の傾向を、系統学の枠を超えて、物理学的観点から掘り下げて探究することで動物の多様化の根底にある進化原理を解明できるのではないかと考えている。

私たちはこれまでに、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いてショウジョウバエのタイプ IVa カドヘリン (DE カドヘリン) の EC 領域の分子形態を明らかにし、折れ曲がった球状形態をとる EC1-EC4 領域にホモフィリック結合の特異性を決める因子が存在することを見出した¹³⁾。この研究成果から AFM による分子形態観察が無脊椎動物クラシカルカドヘリンの構造/機能解析に有用であることが示された。そこで私たちは、この観察手法を DE カドヘリン細胞外領域全体及びタイプ III カドヘリン (DN カドヘリン) の細胞外領域に適用し、節足動物カドヘリンの構造進化の研究を押し進めた。加えて新たに、マイクロビーズを用いた無細胞系でカドヘリンの細胞外領域の結合活性を解析する手法を確立した。さらに、AFM を用いて生体内のアドヘレンスジャンクションで働くカドヘリン分子の構造を観察する方法も試みた。以上、本年度の研究の進展を以下に報告する。

結果と考察

(1) マイクロビーズを用いた集合実験によるカドヘリン接着活性の検出

無脊椎動物のカドヘリンの細胞外領域の活性を解析する方法を新たに確立するために、マイクロ磁性ビーズを用いた集合実験を試みた。まず、DE カドヘリンと DN カドヘリンの細胞外領域全体を GFP/V5 タグ/His タグに融合させたタンパク質 (DEEXfull-EGFP) を培養細胞 (S2 細胞)

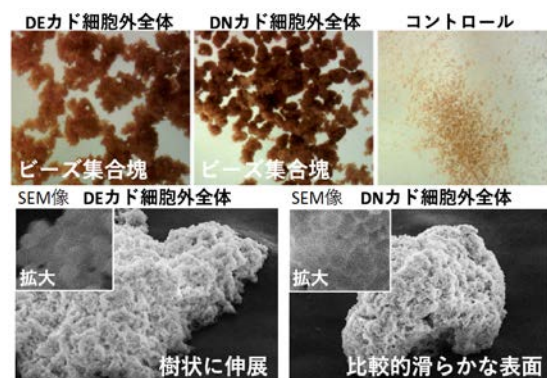


図 5. マイクロビーズによる集合実験

に発現させ、培養液に分泌させた。そして、その培養上清を抗 His タグ磁性ビーズ（直径 1.5 μm ）と混ぜてガラス皿に移し、細胞による集合実験と同じように水平旋回を施した。その結果、どちらのカドヘリンが入ったガラス皿においても肉眼で確認できるほどの大きさのビーズの集合塊が形成された（図 5 上段）。興味深いことに、得られた集合塊の形態に DE カドヘリンと DN カドヘリンで違いが見られた。前者は樹状に広がった塊となったが、後者は比較的表面が滑らかで、コンパクトな塊となった。その違いは走査電子顕微鏡による観察でも確認できた（図 5 下段）。この実験ではカドヘリン分子の濃度を揃えることができていないために、ビーズ集合塊の形態的な違いが DE カドヘリンと DN カドヘリンの働き方の違いを反映しているのかはまだはっきりしていない。それでも、市販の磁性ビーズを活用した無細胞系でカドヘリンの集合活性を検出できたことは今後の解析手法の開発に役立つ成果である。

（2）DN カドヘリンの接着活性に必要な細胞外領域の特定

DN カドヘリンの細胞外領域の中で細胞接着に必要な部分を調査するために、DN カドヘリンの細胞外領域に欠失をもつ分子を作製し、上述のビーズ集合実験を行った。その結果、N 末端側から EC13 までを持つ分子でも弱い集合活性を示すものの、強い集合活性には N 末端側から LG1 までの領域を持っていることが必要であることが分かった。このことは、DN カドヘリンでは膜貫通領域側の EC ドメイン以外の領域も機能的に接着に関わっていることを示唆する一方、DE カドヘリンには存在しない最も膜近傍の細胞外ドメインは接着に必ずしも必要でないことを示唆した。この結果は、祖先型のタイプ III カドヘリンから昆虫類と甲殻類の系統で進化したタイプ IV カドヘリンがなぜ接着機能を失わずに進化できたのかを理解するための助けとなるかもしれない。

（3）DE カドヘリンと DN カドヘリンの分子形態の観察

DE カドヘリンの細胞外領域の全体の形態を調べるために、DE カドヘリンの細胞外領域全体を GFP につなげたコンストラクト DEEXfull-GFP を作製し、タンパク質を精製して AFM で観察した。大きな球状の領域と長く伸びたひも状の領域が確認されたが、得られた分子画像のどの領域が DE カドヘリンのどの領域に対応するかを判別することはできていない。

同様に、DN カドヘリンの細胞外領域の N 末端側から 16 個の EC をもつコンストラクト（DNEC16）と 13 個の EC をもつコンストラクト（DNEC13）を作製し、精製して AFM での観察を行った。その結果、屈曲のあるひも状の形態が観察された。DNEC16 は少なくとも 4 カ所の屈曲があり、DNEC13 ではそのうちの一カ所が欠けていることを示唆するかもしれない分子画像が得られた。しかし、現在までの観察結果だけでははっきりとした結論を導くことは難しく、今後さらに別の欠失をもつコンストラクトを観察することで、分子形態と一次構造の対応関係を慎重に調べていく必要がある。

（4）昆虫のアドヘレンスジャンクション様構造の AFM 観察

生体内のアドヘレンスジャンクションでタイプ IV カドヘリンがどのような構造をして機能しているかを直接観察するために、九州大学の市川らによって最近報告された甲虫ゴミムシダマシ脚関節の弾性器官にあるアドヘレンスジャンクション様構造¹⁴⁾を、名古屋大学の白倉らが最近報告した凍結切片作製法（徳安法）と AFM を組み合わせた方法¹⁵⁾で観察を試みた。その結果、ジャンクションの密集したターゲット領域の切片を作ることができ、市川らが記載したジャン

クシオン構造も AFM で確認することができた。ジャンクション部分の、向き合う細胞膜の間の分子形態を明らかにすることがこの観察の目的であるが、まだ十分に精度の高い観察とはなっていないので今後技術的改善を図りたい。

おわりに

本年度、無脊椎動物のカドヘリンの構造/機能解析にマイクロビーズが利用可能であることが見出されたことは大きな進展であった。無細胞系での解析手法の開発が今後の重要な課題となると考えている。細胞外領域の構造の違いによるカドヘリンの物性の違いを見出すことができるようになることが次の技術開発の重要なポイントであり、そのような物性の違いがアドヘレンスジャンクションの機能や動態とどのように関連しているのかを理解することで、動物の形態進化に対する理解が促進されると考えている。

謝辞

AFM による分子形態の観察はオリンパス株式会社の八木明氏と酒井信明氏にご協力いただいで行われました。凍結切片の作製は名古屋大学の臼倉治郎博士（名誉教授）と臼倉英治博士にご協力いただいで行われました。凍結切片作製法は、文部科学省委託事業ナノテクノロジープラットフォーム課題として名古屋大学微細構造解析プラットフォームの支援を受けて習得しました。本研究にご協力いただいた方々に感謝します。

参考文献

- 1) Duboule D: Temporal colinearity and the phylotypic progression: a basis for the stability of a vertebrate Bauplan and the evolution of morphologies through heterochrony. *Dev Suppl* 1994 :135-142.
- 2) Raff R: *The Shape of Life: Genes, Development, and the Evolution of Animal Form*. Chicago: Univ. Chicago Press; 1996.
- 3) True JR, Haag ES: Developmental system drift and flexibility in evolutionary trajectories. *Evol Dev* 2001, 3:109-119.
- 4) Schwager EE, Sharma PP, Clarke T, Leite DJ, Wierschin T, Pechmann M, Akiyama-Oda Y, Esposito L, Bechsgaard J, Bilde T, Buffry AD, Chao H, Dinh H, Doddapaneni H, Dugan S, Eibner C, Extavour CG, Funch P, Garb J, Gonzalez LB, Gonzalez VL, Griffiths-Jones S, Han Y, Hayashi C, Hilbrant M, Hughes DST, Janssen R, Lee SL, Maeso I, Murali SC, Muzny DM, Nunes da Fonseca R, Paese CLB, Qu J, Ronshaugen M, Schomburg C, Schönauer A, Stollewerk A, Torres-Oliva M, Turetzek N, Vanthournout B, Werren JH, Wolff C, Worley KC, Bucher G, Gibbs RA, Coddington J, Oda H, Stanke M, Ayoub NA, Prpic NM, Flot JF, Posnien N, Richards S, McGregor AP: The house spider genome reveals an ancient whole-genome duplication during arachnid evolution. *BMC Biol* 2017, 15:62.
- 5) Akiyama-Oda Y, Oda H: Cell migration that orients the dorsoventral axis is coordinated with anteroposterior patterning mediated by Hedgehog signaling in the early spider embryo. *Development* 2010, 137:1263-1273.
- 6) Kanayama M, Akiyama-Oda Y, Nishimura O, Tarui H, Agata K, Oda H: Travelling and splitting of a wave of hedgehog expression involved in spider-head segmentation. *Nat Commun* 2011, 2:500.

- 7) Harris TJC, Tepass U: Adherens junctions: from molecules to morphogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010, 11:502-514.
- 8) Oda H, Takeichi M: Evolution: Structural and functional diversity of cadherin at the adherens junction. *J Cell Biol* 2011, 193:1137-1146.
- 9) Rauzi M, Verant P, Lecuit T, Lenne P-FF: Nature and anisotropy of cortical forces orienting *Drosophila* tissue morphogenesis. *Nat Cell Biol* 2008, 10:1401-1410.
- 10) Landsberg KP, Farhadifar R, Ranft J, Umetsu D, Widmann TJ, Bittig T, Said A, Jülicher F, Dahmann C: Increased cell bond tension governs cell sorting at the *Drosophila* anteroposterior compartment boundary. *Curr Biol* 2009, 19:1950-1955.
- 11) Oda H, Tagawa K, Akiyama-Oda Y: Diversification of epithelial adherens junctions with independent reductive changes in cadherin form: identification of potential molecular synapomorphies among bilaterians. *Evol Dev* 2005, 7:376-389.
- 12) Sasaki M, Akiyama-Oda Y, Oda H: Evolutionary origin of type IV classical cadherins in arthropods. *BMC Evol Biol* 2017, 17:142.
- 13) Nishiguchi S, Yagi A, Sakai N, Oda H: Divergence of structural strategies for homophilic E-cadherin binding among bilaterians. *J Cell Sci* 2016, 129:3309-3319.
- 14) Ichikawa T, Toh Y, Sakamoto H: Structure and function of the elastic organ in the tibia of a tenebrionid beetle. *Naturwissenschaften* 2016, 103:41.
- 15) Usukura E, Narita A, Yagi A, Sakai N, Uekusa Y, Imaoka Y, Ito S, Usukura J: A Cryosectioning Technique for the Observation of Intracellular Structures and Immunocytochemistry of Tissues in Atomic Force Microscopy (AFM). *Sci Rep* 2017, 7:6462.

問い合わせ先 :

JT 生命誌研究館 〒569-1125 大阪府高槻市紫町 1-1
072-681-9750 (代表)