

1-1 発生遺伝

小林 悟 (教授)

1) 専門領域：発生生物学

2) 研究課題：

a) 極細胞中で発現する遺伝子のマイクロアレイ解析

b) Nanos タンパク質による体細胞分化抑制機構

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 極細胞中で発現する遺伝子のマイクロアレイ解析

多くの動物の卵中には、生殖質と呼ばれる特殊な細胞質が局在しており、これを取りこんだ極細胞が生殖細胞に分化することが知られている。ショウジョウバエの生殖質中には、生殖細胞の形成に関わる複数の母性因子が局在する。この一部の因子は既に同定されている。しかし、生殖細胞へと分化するように発生運命を決定する因子の実体は明らかではない。おそらく、この因子は、生殖細胞への運命決定に関わる遺伝子を活性化すると考えられてきた。そこで、極細胞（予定始原生殖細胞）中で発現する遺伝子を網羅することを試みる。

胚発生過程を8つの時期に分割し、それぞれの胚から極細胞を単離することに成功した。それら極細胞から得たRNAをプローブとして、ショウジョウバエ全遺伝子に対するカスタム・オリゴマイクロアレイを用いて解析を行ってきた。この解析から、以下の諸点が明らかとなった。1) まず、マイクロアレイの結果は安定しており、実験結果のばらつきは少ないことが明らかとなった。2) 予備的な結果であるが、コントロールとして用いた全胚から抽出したRNAに比べ、極細胞中のRNAをプローブとして用いたときのシグナル強度が4倍以上の転写産物は、全ステージをまとめると約500存在することが明らかとなった。3) このように極細胞中で特に発現が高い遺伝子は、胚発生の中期から後期にかけて極細胞中で発現するもの（胚性遺伝子）（約300遺伝子）、初期の極細胞中に取り込まれる母性mRNAをコードするもの（母性遺伝子）（約180遺伝子）、さらに母性／胚性発現により極細胞中に常に検出されるmRNAをコードするもの（約60遺伝子）に分けられた。現在、これら遺伝子の機能解析にも着手している。

b) Nanos タンパク質による体細胞分化抑制機構

正常な発生過程において、極細胞の分化過程に関わる分子の1つとしてナノス(Nanos)と呼ばれるタンパク質を同定している。Nanosは、生殖質に分布し、極細胞に取り込まれるという挙動を示す。Nanosは、極細胞の細胞死、さらに極細胞が体細胞に分化する

ことを抑制することで、極細胞の分化過程を正常に進行させる働きがある Nanos タンパク質を欠き、かつ細胞死 (apoptosis) を抑制した極細胞 (nos-H99 極細胞) が、体細胞組織に取り込まれる。nos-H99 極細胞は、体細胞組織の中でも中腸に高頻度で取り込まれる。そこで、中腸に取り込まれた nos-H99 極細胞中で、中腸の分化マーカーが発現しているか否かを調べた。その結果、調べた全ての極細胞中で中腸マーカー遺伝子が発現していることが明らかとなった。一方、このような極細胞中では、生殖系列のマーカーである Vasa タンパク質の発現が有意に低下していた。このことは、nos-H99 極細胞が生殖系列の性質を失い、体細胞に分化することを示している。

これまでに、Nanos タンパク質は、極細胞中で Importin-a2 タンパク質の発現を翻訳レベルで抑制することにより、転写因子の核移行を妨げ、体細胞性遺伝子の発現を阻害していることが明らかとなっている。RNAi 法を用い、nos-H99 極細胞中で Importin-a2 活性を減少させると、体細胞組織に取り込まれる極細胞が観察されなくなった。このことは、nos-H99 極細胞の体細胞分化に Importin-a2 が必要なことを示している。しかし、正常な極細胞中で Importin-a2 のみを人為的に発現させても体細胞組織に取り込まれるものはない。以上の結果から、Nanos タンパク質は Importin-a2 を含む複数のタンパク質の産生を阻害することにより、極細胞の体細胞分化を抑制していることが強く示唆される。現在、Nanos による細胞死抑制機構の解明にも取り組んでいる。

4) 学術論文

Y. Hayashi, M. Hayashi and S. Kobayashi, "Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila germline*" *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **101**, 10338-10342 (2004).

K. Hanyu-Nakamura, S. Kobayashi and A. Nakamura, "Intrinsic and extrinsic lipid phosphate phosphatase defines cell viability that promotes directional migration of *Drosophila* germ cells" *Development* **131**, 4545-4553 (2004).

S. Unezaki, M. Nishizawa, E. Okuda-Ashitaka, Y. Masu, M. Mukai, S. Kobayashi, K. Sawamoto, H. Okano and S. Ito, "Characterization of the isoforms of MOV0 zinc finger protein, a mouse homologue of *Drosophila* ovom as transcription factors" *Gene* **336**, 47-58 (2004)

5) 著書、総説

小林悟, "ショウジョウバエにおける極細胞の形成と維持" 実験医学、23、20-25 (2005) .

小林悟, "生殖細胞研究の動向" 実験医学、23、682-685 (2005) .

重信秀治、小林悟, "トランスクリプトーム解析によるショウジョウバエ生殖細胞形成機構の解明" 実験医学、23、686-691 (2005) .

6) 国際会議発表リスト

K. Hanyu-Nakamura, S. Kobayashi and A. Nakamura, “Germ cell-autonomous wunen2 is required for germline development in Drosophila embryos” Cold Spring Harbor Meeting, New York (USA) October 2004.

S. Shigenobu and S. Kobayashi, “A global profile of germline gene expression in Drosophila embryos”

Cold Spring Harbor Meeting, New York (USA) October 2004.

S. Kobayashi, Cold Spring Harbor Meeting, New York (USA) October 2004.

7) 招待講演

S. Kobayashi, Cold Spring Harbor Meeting, New York (USA) October 2004.

小林悟「動物における生殖細胞形成機構」、特定領域研究「植物の軸と情報」シンポジウム、京都、2004年12月.

小林悟「生殖細胞の形成に関わる RNA」、千里ライフサイエンスシンポジウム、大阪、2005年2月.

8) 学会および社会的活動

日本学術振興会特別研究員等審査会専門委員

9) 他大学での非常勤講師、客員教授

九州大学大学院理学府 非常勤講師

藤田保健衛生大学 医学部 客員教授