

1. 時系列生命現象研究領域

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) 極細胞で発現する遺伝子の同定
- b) 生殖巣を構成する体細胞で発現する遺伝子の機能
- c) 極細胞における SUMO 化の役割

3) 研究活動の概略と主な成果：

a) 極細胞で発現する遺伝子の同定

極細胞質中に局在する未知の母性因子の働きにより、極細胞（生殖系列）特異的な遺伝子発現が活性化され、その結果、極細胞が生殖細胞へと分化するように運命づけられると考えられてきた。この母性因子を同定するために、形成直後の極細胞に enrich する母性 RNA をマイクロアレイを用いて同定することを試みてきた。これまで、*in situ* hybridization 法を用いて分布解析をおこない、極細胞質と極細胞に enrich する34種類の転写因子をコードする母性 RNA を同定した。また、dsRNA を用いた RNA の機能阻害実験により、9種類の RNA に対する dsRNA を卵に注入すると、生殖系列特異的な遺伝子である *vasa* や *nanos* の極細胞中における発現が減少することも明らかとなった。今年度は、このうち *ovo* 遺伝子に注目して解析を行っている。母性 *ovo* RNA は、極細胞質および極細胞に局在し、そのタンパク質は自分自身の遺伝子をも活性化することができる。極細胞におけるこの遺伝子の機能を明らかにすることにより、生殖系列特異的な遺伝子発現を継続的に活性化する機構を明らかにすることができると考えられる。

b) 生殖巣を構成する体細胞で発現する遺伝子の機能

極細胞は、生殖巣を構成する体細胞とともに胚生殖巣を構成する。この過程は生殖細胞の発生に不可欠であるが、その過程における極細胞と体細胞の相互作用等は十分に明らかになっていない。昨年度から引き続き、胚生殖巣で発現する遺伝子の機能解析を行ってきた。そのうち、レセプター型チロシン・キナーゼをコードする *sevenless* (*sev*) に注目し、その機能解析を行ったところ、*sev* は、雄の胚生殖巣後方の体細胞で発現し、その領域に生殖幹細胞ニッチが形成されるのを阻害していることが明らかとなった。また、*Sev* レセプターのリガンドを極細胞が発現していることも明らかとなり、極細胞から胚生殖巣へのシグナル伝達の初めての例となった。さらに、今年度は、このニッチの形成に受容体型膜タンパク質である *Notch* も関わることも明らかとなった。現在、これらの詳細な機能解析を勧めている。

c) 極細胞における SUMO 化の役割

極細胞で発現する遺伝子のマイクロアレイ解析から、極細胞中において、SUMO 化に関わる遺伝子群が高

発現していることを見出した。SUMO 化はユビキチン類似のタンパク質修飾であり、核へのタンパク質の輸送や転写抑制などに関与する。したがって、これら遺伝子の機能解析により、生殖細胞発生過程における新しい遺伝子発現制御機構を明らかにできると考えている。現在までに、SUMO 化に関わるタンパク質の機能を阻害すると、雌の極細胞のみが生殖巣へと移動する過程で細胞死をおこすことが明らかとなった。雄の極細胞は正常であり、生殖巣に到達するまでの期間に、極細胞の性差が決まることを示唆している。このような早い時期に生殖系列の性差が決まることはいままでに報告がなく、新たな生殖系列の性決定機構を明らかにすることができると予想している。

4) 学術論文

T. Sengoku, O. Nureki, A. Nakamura, S. Kobayashi and S. Yokoyama,

“Structural Basis for RNA Unwinding by the DEAD-Box Protein *Drosophila* Vasa” *Cell* 125, 287-300 (2006).

M. Mukai, Y. Kitadate, K. Arita, S. Shigenobu and S. Kobayashi,

“Expression of meiotic genes in the germline progenitors of *Drosophila* embryos” *Gene Expr. Patterns* 6, 256-266 (2006).

S. Shigenobu, K. Arita, Y. Kitadate, C. Noda and S. Kobayashi,

“Isolation of germline cells from *Drosophila* embryos by flow cytometry” *Develop. Growth Differ.* 48, 49-57 (2006).

S. Shigenobu, Y. Kitadate, C. Noda and S. Kobayashi,

“Molecular characterization of embryonic gonads by gene expression profiling in *Drosophila melanogaster*” *Proc. Natl. Acad. Sci., USA.*, 103, 13728-13733 (2006).

K. Sato, N. Shibata, H. Orii, R. Amikura, T. Sakurai, K. Agata, S. Kobayashi and K. Watanabe,

“Identification and origin of the germline stem cells as revealed by the expression of *nanos*-related gene in planarians” *Develop. Growth Differ.* 48, 615-628 (2006).

Y. Nakamura, T. Kagesawa, M. Nishikawa, Y. Hayashi, S. Kobayashi, T. Niimi and K. Matsuno,

“Soma-dependent modulations contribute to divergence of rhomboid expression during evolution of *Drosophila* eggshell morphology” *Development* (in press).

5) 著書, 総説

小林悟, “生殖系列の形成機構” 「新編精子学」毛利秀雄, 星元紀 監修 森沢正昭, 星和彦, 岡部勝 編 東京大学出版 (2006).

向正則, 小林悟, “ショウジョウバエの母性因子 SVA53 による減数分裂過程の染色体構造制御” 遺伝 (印刷中).

6) 国際会議発表リスト

Y. Kitadate, K. Arita, S. Shigenobu and S. Kobayashi, “Boss/Sev signaling from germline to soma specifies the germline stem cell niche in *Drosophila* male gonads”

Cold Spring Harbor Meeting (New York) October 2006.

M. Mukai, Y. Hayashi, Y. Kitadate, S. Shigenobu K. Arita, K. Arita and S. Kobayashi, “A maternal RTR/POZ-Zn-Finger protein, Sva53, is required for meiosis in *Drosophila melanogaster*”

Cold Spring Harbor Meeting (New York) October 2006.

S. Shigenobu, Y. Kitadate, C. Noda, K. Arita and S. Kobayashi,

“Molecular characterization of the embryonic gonads by gene expression profiling in *Drosophila*”

Cold Spring Harbor Meeting (New York) October 2006.

7) 招待講演

小林悟, 北館祐, 野田千代, 有田佳代, 重信秀治 「ショウジョウバエ極細胞および生殖巣で発現する遺伝子の同定・機能解析」 第78回日本遺伝学会, つくば, 2006年9月.

小林悟 「ショウジョウバエの生殖細胞形成過程を制御する母性因子」 大阪大学蛋白質研究所セミナー, 大阪, 2006年11月.

北館祐, 重信秀治, 有田佳代, 小林悟 「ショウジョウバエ胚の雄生殖巣において Boss/Sev シグナル伝達が生殖幹細胞ニッチを特定化する」 分子生物学会2006フォーラム, 名古屋, 2006年12月.

8) 学会および社会的活動

日本発生生物学会運営委員

9) 他大学での非常勤講師, 客員教授

藤田保健衛生大学医学部客員教授

11) 外部獲得資金

上原記念生命科学財団 研究助成金 「生殖細胞維持機構の解明」 小林悟 (代表) 2005-2006年度

三菱財団自然科学 研究助成金 「ショウジョウバエ生殖細胞形成過程における遺伝子発現調節機構」 小林悟 (代表) 2006-2007年

内藤記念科学奨励金 「ショウジョウバエ母性因子による減数分裂制御機構の解析に関する研究」 向正則 (代表) 2006-2007年