

ショウジョウバエの始原生殖細胞における性特異的な遺伝子発現制御機構の解析

石崎 優木 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 小林 悟 (筑波大学 TARA センター)

背景・目的

個体 (体細胞) の性決定機構に関してはいくつかの動物種で明らかになりつつあるが、生殖細胞の性決定機構は不明な点が多い。生殖細胞の性決定に関して解析が進んでいるショウジョウバエでは、*Phf7* 遺伝子が始原生殖細胞のオス化に、*Sxl* 遺伝子が始原生殖細胞のメス化に関与することが報告されている。オスでは生殖巣の体細胞からの非自律的 (non-autonomous) なシグナルにより始原生殖細胞において *Phf7* の発現が誘導され (図1)、メスでは *Sxl* 遺伝子が始原生殖細胞において自律的 (autonomous) な機構によって活性化することが知られている。本研究では、メスの始原生殖細胞において、生殖巣の体細胞の非自律的な働きにより *Phf7* タンパク質の発現、すなわちオス化が阻害されていることを示唆する結果を初めて得たので報告する。

胚発生過程において、始原生殖細胞は、胚後極から生殖巣へと移動し、生殖巣を構成する体細胞と接する (gonad PGC)。一方、一部の始原生殖細胞は、生殖巣に取り込まれずに生殖巣外に残され (lost PGC)、生殖巣を構成する体細胞と接することはない。本研究の先行研究において、メスの gonad PGC および lost PGC では *Phf7* RNA は発現しているにもかかわらず、gonad PGC では lost PGC と比較して *Phf7* タンパク質の発現が著しく低いレベルにあることが観察されていた。この結果は、メスにおいて生殖巣体細胞からの働きによって *Phf7* mRNA から *Phf7* タンパク質の翻訳過程が阻害されることを示唆している (図1)。しかし、この観察は予備的であり、観察数が不十分であったため、本研究では観察数を増やして、結論を得ることを目的とした。

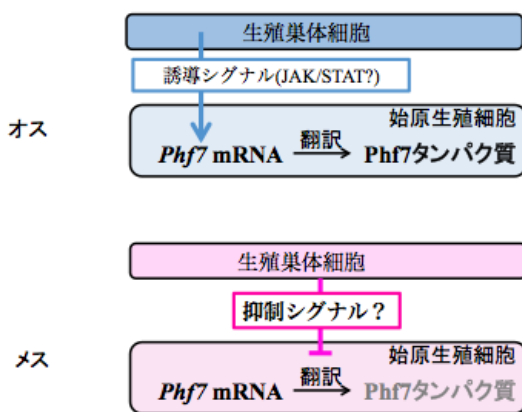


図1 ショウジョウバエの始原生殖細胞における性特異的な遺伝子発現制御機構
詳細は本文参照

材料・方法

1) *Phf7* mRNA の発現解析

Phf7 mRNA の発現は、*in situ* ハイブリダイゼーションにより検出した。この時、オスとメスを区別して観察するために、メス始原生殖細胞でのみ Ds-Red (Redstinger) を発現する胚を用い

た。採卵から 17 時間後に固定を行い、後期胚 (ステージ 16-17) の胚を観察の対象とした。共焦点レーザー顕微鏡を用いて、gonad PGC および lost PGC において *Phf7* mRNA を発現している細胞数をカウントした。

2) *Phf7* タンパク質の発現解析

Phf7 遺伝子領域に HA タグが挿入されている系統 (*Phf7HA* 系統) を用いて、抗 HA 抗体の免疫組織学的染色により *Phf7* タンパク質を検出した。この時、メス特異的に発現する *Sxl* タンパク質を同時に免疫組織学的染色することで、オスとメスを区別した。観察の対象として、ステージ 16-17 の胚を用いた。共焦点レーザー顕微鏡を用いて、gonad PGC および lost PGC において *Phf7* のタンパク質を発現している細胞数をカウントした。

結果・考察

オス・メスの gonad PGC および lost PGC における *Phf7* mRNA と *Phf7* タンパク質の発現を比較した。その結果、先行研究と同様に、メスの gonad PGC および lost PGC では、*Phf7* mRNA は発現しているにもかかわらず、gonad PGC では lost PGC と比較して *Phf7* タンパク質の発現が著しく低いレベルにあることが観察された (図2)。一方、オスの gonad PGC および lost PGC では、*Phf7* mRNA と *Phf7* タンパク質は共に発現していることも明らかとなった (図2)。このことから、メスの gonad PGC における *Phf7* タンパク質の産生は、生殖巣体細胞の働きにより抑制されることが強く示唆される。すなわち、オスだけでなくメスにおいても、非自律的な制御が始原生殖細胞の性決定機構に関与することを初めて示唆した点で意義が大きい。今後は、始原生殖細胞のトランスクリプトームのデータをもとに、メスの生殖巣体細胞から産生される *Phf7* タンパク質の産生を抑制する「抑制シグナル」について明らかにしたい。

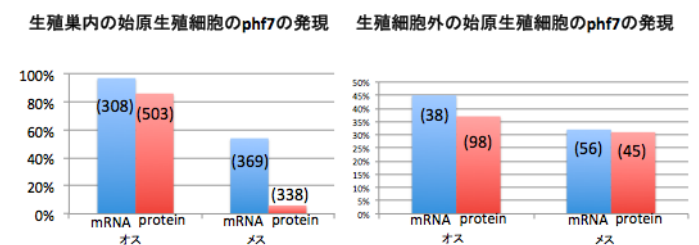


図2 生殖巣内外の始原生殖細胞における *Phf7* mRNA と *Phf7* タンパク質の発現
グラフの縦軸はRNAあるいはタンパク質を発現している始原生殖細胞の割合を示す。括弧内に観察した細胞の総数を示す。