

ショウジョウバエの始原生殖細胞におけるポリコームグループ遺伝子の発現解析

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

背景と目的

ショウジョウバエ卵の後端には、極細胞質と呼ばれる特殊な細胞質が局在しており、この細胞質を取り込んだ細胞 (始原生殖細胞) のみが生殖細胞に分化できる。極細胞質中には、体細胞分化を抑制するとともに、生殖細胞への分化を誘導する因子 (母性因子) が含まれることが知られている。たとえば、極細胞質に局在する母性 *pgc* RNA から翻訳される母性 Pgc ペプチドは、体細胞分化に関わる遺伝子の転写を抑制する働きを持つ。また、極細胞質に含まれる母性 *ovo* RNA から産生される母性 Ovo タンパク質は、生殖細胞で高発現する遺伝子の転写を活性化するとともに、体細胞性遺伝子の転写抑制をおこなう。しかし、これら母性タンパク質の始原生殖細胞における発現は、発生の初期に限られていることから、これらタンパク質に代わって体細胞性遺伝子の発現抑制状態を維持する別の機構が存在すると考えられる。

本研究では、転写抑制状態の維持に働くエピジェネティックな機構である、ポリコームグループ (PcG) というタンパク質群に着目した。PcG は 2 種類のタンパク質複合体、PRC2 と PRC1 で構成される。PRC2 あるいはこれら 2 つの複合体が順次働くことにより、クロマチンの構造を変化させ、特定の遺伝子の転写を抑制する。ショウジョウバエでは PRC2 のコアとなるタンパク質をコードする 5 遺伝子 (*E(z)*, *Su(z)12*, *esc*, *escl*, *Caf1-55*) と PRC1 の 4 遺伝子 (*Pc*, *ph-p*, *Psc*, *Sce*) が同定されている。これら遺伝子群は、線虫の生殖細胞の形成に関与することが報告されているが、ショウジョウバエを含め、他のモデル生物の生殖細胞形成における PcG の機能は明らかになっていない。

本研究では、ショウジョウバエの始原生殖細胞における体細胞性遺伝子の転写抑制状態の維持に PcG が関与するのかを明らかにするための第 1 段階として、PRC2・PRC1 を構成するタンパク質をコードする遺伝子群が始原生殖細胞中で揃って発現する時期を特定することを試みた。

方法

・ *in situ* hybridization

産卵後 0~16 時間のショウジョウバエの胚で、digoxigenin (DIG) で標識したプローブを用いて *in situ* hybridization を行った。プローブの検出にはヒツジ抗 DIG-抗体を用い、Nitroblue Tetrazolium / 5-Bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (NBT/BCIP) 発色で RNA の発現を観察した。

結果

表 1 に示すように、PRC2 を構成する 5 遺伝子の *in situ* hybridization では、*escl* を除く 4 遺伝子 (*E(z)*, *Su(z)12*, *esc*, *Caf1-55*) は、卵嚙期 (ステージ 1~2) に胚全体で発現が見られたが、胞胚期 (ステージ 4~5) では始原生殖細胞における発現は見られなかった。だが、胚発生後期 (ステージ 14 以降) になると *E(z)*, *Su(z)12*, *Caf1-55* の発現が再び見られるようになった。

PRC1 を構成する 4 遺伝子の *in situ* でも類似した結果が得られた。*ph-p* 以外の 3 遺伝子 (*Pc*, *Psc*, *Sce*) は初期に胚全体で発現し、中期には始原生殖細胞での発現が見られなくなったが、後期にかけては *Pc*, *ph-p*, *Sce* の発現が始原生殖細胞で再び上昇した。

PRC2

遺伝子	st. 1~2	st. 4~5	st. 9~10	st. 14	st. 15	st. 16	st. 17
<i>E(z)</i>	+	-	±	±	+	±	-
<i>Su(z)12</i>	+	-	-	±	±	±	±
<i>esc</i>	+	-	±	-	-	-	-
<i>escl</i>	-	-	-	-	-	-	-
<i>Caf1-55</i>	+	-	±	±	+	+	+

PRC1

遺伝子	st. 1~2	st. 4~5	st. 9~10	st. 14~16
<i>Pc</i>	+	-	±	±
<i>ph-p</i>	-	-	±	±
<i>Psc</i>	+	-	±	-
<i>Sce</i>	+	-	±	±

表 1、PRC 1 及び 2 を構成するタンパク質をコードする遺伝子群の始原生殖細胞における発現。+は発現あり、±は非常に弱く検出、-は発現検出不可を示す。st.1~2 に関しては胚全体での発現を示す。

考察と展望

本研究で、ショウジョウバエの始原生殖細胞における PcG 遺伝子群の発現は、胚発生の後期にかけて (ステージ 14 以降) 上昇することが明らかとなった。今後は、始原生殖細胞において、RNA 干渉法 (RNAi) を用いて PcG の働きを阻害することにより、PcG が体細胞性遺伝子の発現抑制状態の維持に機能しているか否かを検証していきたいと考えている。

PcG をコードする遺伝子群、特に PRC2 をコードする遺伝子群は、モデル生物間で保存されていることが知られている。ショウジョウバエの生殖細胞における PcG の機能を明らかにすることにより、動物に共通する生殖細胞の発生機構の解明につなげていきたい。