

ショウジョウバエ胚前極に異所的に形成された PGC 様細胞の性状解析

萩久保 朝香 (筑波大学 生物学類)

指導教員：小林 悟 (筑波大学 生存ダイナミクス研究センター)

背景・目的

ショウジョウバエの初期胚の後極には生殖質と呼ばれる特殊な卵細胞質が局在している。生殖質を取り込む細胞は、始原生殖細胞 (PGC) と呼ばれ、卵や精子である生殖細胞に分化する。生殖質を胚の前極に移植すると、その細胞質を取り込んだ体細胞は PGC となり、生殖細胞に分化する能力を獲得する。このことから、生殖質中には、体細胞への分化を抑制し、生殖細胞への分化を活性化するために必要十分な母性因子が含まれていることが明らかである。体細胞分化に必要な遺伝子 (体細胞性遺伝子) の発現を抑制する生殖質中の母性因子として *Nanos*、*Polar granule component (Pgc)*、*Germ cell-less (Gcl)* タンパク質が、生殖細胞への分化に必要な遺伝子を活性化する母性因子として *Ovo* と *Mamo* タンパク質がこれまでに同定されている。しかし、これら 5 つの母性分子が生殖細胞形成に十分な働きを持つかどうかについては明らかになっていない。

本研究では、この点を明らかにするため、生殖質に局在する母性 RNA の一つである *tao1* mRNA に注目した。*tao1* mRNA を異所的に胚の前極に局在させると、そこに PGC とよく似た形態の細胞が形成されることが報告されている。この前極に形成された PGC 様細胞は生殖質中の母性因子の一つである *Vasa* タンパク質を含まないため、生殖質を含まないと考えられている。そこで、この前極に形成された PGC 様細胞に上記の 5 つの母性因子を局在させ、その細胞が PGC と同じ性質を持つようになるか、さらに胚の後極に移植した時に生殖細胞に分化するかを調べることで、これらの母性因子が生殖細胞形成に十分であることを明らかにしようと考えた。その前段階として、本研究では、*tao1* により前極に形成される PGC 様細胞の性状を調べた。

方法

tao1 mRNA を前極に局在させることができる *tao1-bcd3' UTR* 遺伝子を Gal4-UAS システムを利用して卵母細胞中で発現させた。この卵母細胞に由来する胚 (*tao1* 胚) を PGC が形成されるステージ 3-5 まで発生させ、胚の前極に形成された PGC 様細胞を顕微鏡下で観察した。さらに、*in situ* hybridization 法および蛍光免疫染色法により、生殖質に局在する母性因子 (*Nanos*, *Pgc*, *Gcl* は、mRNA として生殖質に局在したのち、タンパク質に翻訳される) や *Bicoid (Bcd)* タンパク質が PGC 様細胞に含まれるか調べた。

結果

tao1-bcd3' UTR システムは 6 システム存在する。これら 6 システムについて、PGC 様細胞の形成率を調べ、最も PGC 様細胞形成率の高い 1 システムを選出した。しかし、その形成率は移植実験を行うためには低く不十分であった。そこで、Gal4 遺伝子のコピー数を 2 倍に増加することで、*tao1* mRNA の発現量を増加させ、PGC

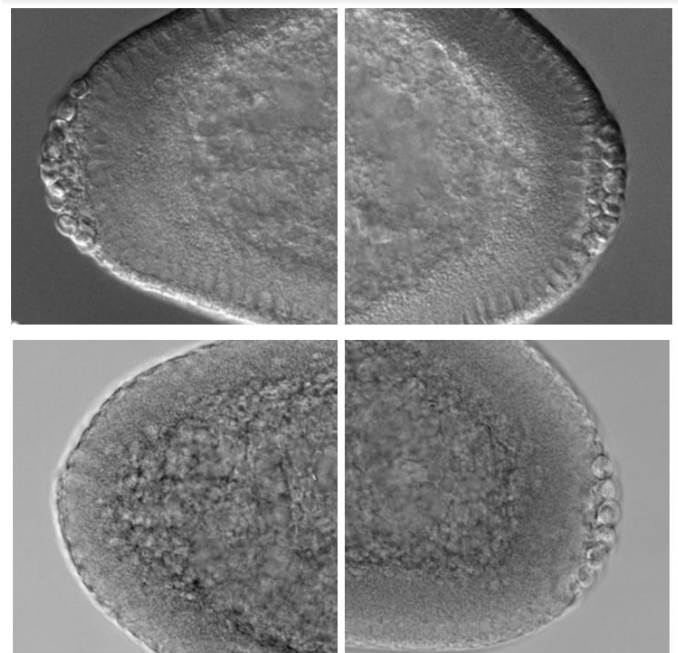


図 1 上：*tao1* 胚の前極 (左) と後極 (右)
下：正常胚 (*yw* 胚) の前極 (左) と後極 (右)

様細胞の形成率を上昇させることを試みた。その結果、移植に十分な頻度 (約 80% の胚) で十分な数 (平均 7 個、最高 25 個) の PGC 様細胞を形成させることに成功した。次に、この条件下で、*nanos* mRNA、*pgc* mRNA、*gcl* mRNA、*Gcl* タンパク質の発現を調べた。これらはすべて、後極の PGC 中に検出されたが、前極に形成された PGC 様細胞中では検出されなかった。さらに、胚前方の体細胞のマーカである *Bcd* タンパク質がすべての PGC 様細胞中で発現することも明らかとなった。

考察

本研究では *tao1* mRNA により前極に形成された PGC 様細胞が、正常な PGC とは異なり、体細胞性遺伝子を発現抑制する母性因子をコードする *nanos*, *pgc*, *gcl* mRNA および *Gcl* タンパク質を含まないことが明らかとなった。さらにこれらの細胞は、前極の体細胞と同様に前方の体細胞マーカである *Bcd* タンパク質を含むことも明らかとなった。これらのことから、PGC 様細胞は PGC の性質を持たず、体細胞に近い性質を持つことが示唆される。今後は生殖細胞分化に必要な遺伝子を活性化させる母性因子 (*Ovo*, *Mamo*) についても同様に発現を調べた後、この PGC 様細胞に *Nanos*, *Pgc*, *Gcl*, *Ovo*, *Mamo* などの母性因子を局在させ、PGC 様細胞が生殖細胞に分化できるかを調べる予定である。