

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「生殖細胞の形成機構の解明とその哺乳動物への応用」

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

小林 悟 (自然科学研究機構基礎生物学研究所岡崎統合バイオサイエンスセンター
教授)

主たる共同研究者

相賀 裕美子(情報・システム研究機構国立遺伝学研究所系統生物研究センター
教授)

松居 靖久 (東北大学加齢医学研究所医用細胞資源センター 教授)

3. 研究内容及び成果

研究課題全体の成果

ショウジョウバエとマウスに共通する生殖細胞形成機構の解明およびそれぞれの動物種に固有の機構を明らかにすることを目的として研究を行ってきた。本研究の大きな成果の一つは、*nanos* 遺伝子がショウジョウバエとマウスの生殖細胞形成に必須であることを明らかにしたことである。これは、両動物種に共通する生殖細胞形成機構の存在を示している。また、生殖細胞の特質である減数分裂の制御に関わる遺伝子の単離も両動物種で行うことができた。さらに、生殖細胞の前駆細胞における遺伝子発現の網羅的解析も終了した。以上の成果は、ショウジョウバエとマウスのみならず、多くの動物における生殖細胞形成機構を明らかにする上での基盤を形成すると考えられる。

小林グループの研究内容および成果

ショウジョウバエでは、卵の後極に分布する生殖質(極細胞質)に局在する母性因子が生殖細胞の形成に必須であり、これを取り込んだ極細胞と呼ばれる細胞のみが、生殖巣に移動した後に卵や精子に分化する。本研究ではこの母性因子に関し以下の成果を得た。

- 極細胞質中において、ミトコンドリア rRNA が極顆粒と呼ばれる構造物上で、ミトコンドリア(原核生物)タイプのリボソームを形成すること、このリボソームによる翻訳が極細胞の形成に必要であることを明らかにした。これらの成果は、原核生物タイプの翻訳系がミトコンドリア外にも存在し、生殖細胞の形成に深く関わることを示している。
- 極細胞には、生殖細胞に分化する能力のみならず、細胞死(アポトーシス)の経路や、体細胞分化経路に入る能力も備わっていることが明らかとなった。母性因子の一つである Nanos タンパク質の働きにより、細胞死への経路と体細胞分化経路が阻害されるために、極細胞は生殖細胞に分化するように発生運命が限局される。これは、極細胞の発生運命決定機構の

一端を明らかにした初めての例である。

- ・クロマチンレベルでの転写制御因子として知られる BTB ドメインと Zn フィンガーを持つタンパク質をコードする新規遺伝子 (*sva53*) を単離した。母性 *sva53* 遺伝子の活性を欠く極細胞は、減数分裂が異常となるために子孫をつくることができない。これらの成果は、減数分裂という生殖細胞の重要な特質を制御する母性因子を同定した初めての例である。
- ・単離した極細胞で発現する遺伝子のマイクロアレイ解析をおこなった。その結果、約 200 種類が母性 RNA として初期の極細胞に限局され、約 300 種類が極細胞中で選択的に転写されることが明らかとなった。また、単離した胚生殖巣の EST 解析も終了している。現在、これら遺伝子の機能解析が進行中であり、本成果が生殖細胞の運命決定機構を解析する上での重要な基盤になると考えられる。

相賀グループの研究内容および成果

マウスにおける *nanos* 相同遺伝子のうち *nanos2* は、精巣中の始原生殖細胞で特異的に発現していた。一方、*nanos3* の発現は、移動期の始原生殖細胞および胎生 14.5 日までの雌雄の始原生殖細胞に観察された。この発現様式と対応するように、*nanos2* ノックアウトマウスでは、雄の生殖細胞欠損が、*nanos3* ノックアウトマウスは雌雄ともに生殖細胞欠損が観察された。さらに、*nanos2* や *nanos3* ノックアウトマウスにおける生殖細胞の欠損の一因がアポトーシスであることも明らかにした。以上の研究により、哺乳類であるマウスにおいても、ショウジョウバエと同様な生殖細胞の形成機構が存在することが明らかになった。

松居グループの研究内容および成果

マウスにおける生殖細胞形成に関わる遺伝子の同定により以下の成果が得られた。

まず、始原生殖細胞で形成期から特異的に発現する遺伝子として *mil-1*, *mil-2* を同定した。さらに、転写開始点から上流 2kbp 付近には他の始原生殖細胞で特異的に発現する遺伝子の近傍にも共通に見られる配列があり、この部分は、始原生殖細胞での発現の促進と、体細胞での発現の抑制の両者に働いていることが明らかとなった。これら遺伝子の発現制御機構の解析から、始原生殖細胞の分化運命決定に関わる転写制御を今後明らかにできると考えられる。また、E-カドヘリンを介した細胞間相互作用が始原生殖細胞への分化決定に重要な役割を果たしていることも新たに明らかにした。さらに、減数分裂前期の進行に必須な新規遺伝子 (*Meisetz*) を同定することにも成功した。*Meisetz* は H3K4 のメチル化を介して、減数分裂前期の進行に必要な遺伝子の発現を制御している。減数分裂は生殖細胞を特徴づける現象で、この遺伝子の関わる減数分裂開始の制御は生殖細胞の本質と深く関わると考えられる。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

ショウジョウバエの極細胞の発生運命を生殖細胞に限定させる *Nanos* 機能の同定、*Nanos* 相同遺伝子のマウスにおける同定(共同研究者)、減数分裂を制御する新規遺伝子

Meisetz の同定など、生殖細胞系列の発生分化の解析が順調に進展した。とくに共同研究者との協力により、ショウジョウバエとマウスの生殖細胞分化における Nanos の共通性を示した Science への発表は高く評価できる。他の成果の多くが現段階では未発表であるが、多くの知見が蓄積されているのでトップジャーナルへのすみやかな論文発表が期待される。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

ショウジョウバエ生殖細胞系列の発生分化の解析は本プロジェクト開始時期の状況と比べて着実な進展はしたがCRESTによって大きな発展につながったというには到らなかった。CREST研究の成果はむしろマウスの生殖細胞分化とショウジョウバエとの共通性の指摘ができた点にある。神経系などの発生分化における共通性はもはや常識であるが、生殖細胞分化機構の共通性の指摘は世界を驚かせたと言えよう。今後はマウスの研究の発展と、減数分裂の遺伝子機構の解明、そこにおけるエピジェネティクス機構の解明などにさらに発展することが期待される。生殖細胞分化の基礎研究であり、将来的には不妊症などの解明につながる可能性はあるが、現時点では特許申請などが少ないことはやむを得ない。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

(受賞)

小林 悟：平成17年度日本動物学会賞（2005年10月）