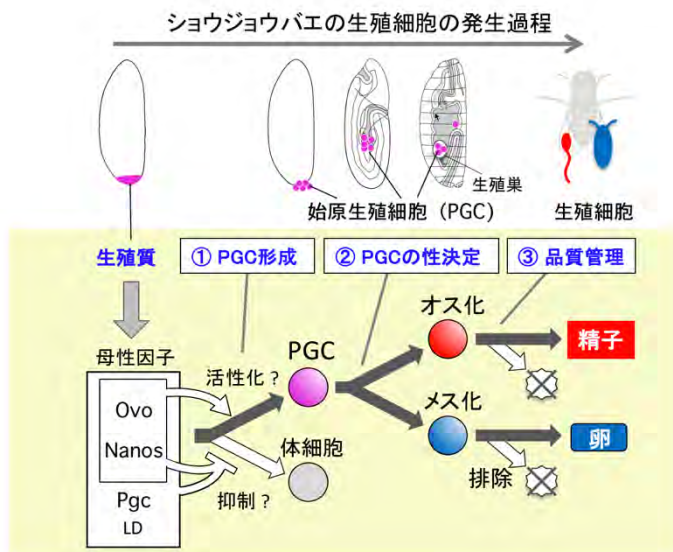


生殖ダイナミクス

「生殖細胞形成メカニズムの解明に挑む」

次代の生命を生み出すためには卵や精子である生殖細胞が必要である。一方、体細胞は、筋肉や神経などの体のパーツを作り上げ個体の生命を支えているが、やがて個体の死とともにその役割を終えてしまう。ショウジョウバエ卵の後端には生殖質と呼ばれる特殊な細胞質があり、この細胞質を取り込む始原生殖細胞のみが生殖細胞に分化する。生殖質の中には、生殖細胞の形成の引き金を引く分子がそろっていることが、生殖質の移植実験により明らかにされている。そこで、このような分子の実体を明らかにすることにより、生殖細胞形成メカニズムの全貌を解明できると考えている。さらに、生殖系列の性の決定・分化機構についても研究を行っている。

Germ cells are specialized cells that can transmit genetic materials from one generation to the next in sexual reproduction. All of the other cells of the body are somatic cells. This separation of germ and somatic cells is one of the oldest problems in developmental biology. In many animal groups, a specialized portion of egg cytoplasm, or germ plasm, is inherited by the cell lineage which gives rise to germ cells. It has been demonstrated that the germ plasm contains maternal factors required and sufficient for germline development. Our laboratory aims to find the molecular mechanisms for germline development and germline sex determination.



ショウジョウバエにおける生殖細胞形成過程および研究のポイント



2021年度 小林研究室集合写真

プロジェクト
メンバー

教授

小林 悟

助教

島田 裕子

林 良樹

林 誠

博士研究員

浅岡 美穂

生命科学研究所

博士前期課程

萩久保 朝香

増川 柁樹

小園 康広

川越 智貴

木村 遼

生物学類

石橋 楓

技術補佐員

古江 衣美

渡邊 満美子

研究概要

ショウジョウバエ卵後端の「生殖質」を、体細胞に分化する卵前端の細胞に取り込ませると、その細胞は体細胞に分化することをやめ、始原生殖細胞となり生殖細胞に分化する。このことは、生殖質中には、体細胞分化を抑制する分子（母性因子）と、生殖細胞への分化を活性化する母性因子が存在していることを物語っている。これまでに、体細胞分化を抑制する母性因子として *Nanos* と *Polar granule component (Pgc)* タンパク質が同定されている。また、始原生殖細胞中で生殖系列特異的な遺伝子（生殖系列遺伝子）を活性化し、生殖細胞に分化するように運命づける働きを持つ母性因子の一つとして *Ovo* タンパク質を同定している。これら母性因子の機能解析を中心として、始原生殖細胞の発生運命決定機構を明らかにすることを試みている。

【体細胞性遺伝子の発現を抑制する機構】

体細胞性遺伝子の発現抑制に関わる母性因子として、*Nanos* と *Pgc* タンパク質が知られている。*Pgc* は、初期胚の始原生殖細胞で一過的に RNA polymerase II 依存的な転写を抑制することで、体細胞性遺伝子の転写を低く抑える。一方、*Nanos* は、転写因子の核移行に関わる *Importin α -2* の産生を翻訳レベルで抑制することで、体細胞性遺伝子の転写を抑えている。*Nanos* のターゲットである *Importin α -2* タンパク質の過剰発現と同時に *pgc* の機能をも欠失させた胚 (*pgc- / Imp α 2 OE*) の始原生殖細胞では、神経で発現する体細胞性遺伝子が脱抑制されることも明らかとなっている。現在、*pgc- / Imp α 2 OE* 胚の始原生殖細胞における遺伝子発現の変化を詳細に解析している。

【母性 *Ovo* タンパク質の解析】

母性 *Ovo* タンパク質は、Zn フィンガードメインを有する転写制御因子であり、始原生殖細胞で高発現する遺伝子群の転写活性化に関与する。そこで、生殖細胞の発生過程における母性 *Ovo* タンパク質の働きを明らかにするために、母性 *Ovo* タンパク質が転写を活性化する遺伝子についてデータベース上で調べたところ、レトロトランスポゾンの発現抑制に関与する遺伝子が *enrich* していることが明らかになった。そこで、生殖系列の細胞において母性 *Ovo* タンパク質の機能を阻害した個体でレトロトランスポゾンの発現を解析した。その結果、胚期の始原生殖細胞においてレトロトランスポゾンの発現に有意な変化はみられなかったが、成虫期の卵巣においてレトロトランスポゾンの発現に有意な上昇がみられた。以上の結果より、母性 *Ovo* タンパク質は生殖系列の細胞においてレトロトランスポゾンの発

現を抑制することで、ゲノムの品質保持に関わると考えられる。現在、母性因子として初期胚の生殖質に供給された母性 Ovo タンパク質が、時間的に隔たりのある成虫期の卵巣においてレトロトランスポゾンの発現を抑制する機構について解析を進めている。

【始原生殖細胞の性差形成機構】

ショウジョウバエはX染色体が一本ならばオス、二本ならばメスとなる。これまでの研究から、ショウジョウバエ始原生殖細胞は、X染色体の数に依存して性が決定し、その決定した性に従って卵や精子に分化すると考えられてきた。しかし、始原生殖細胞の性決定・分化機構は不明である。私たちは、偶然に、メスと比べてオスの始原生殖細胞において翻訳活性が高いことを見出した。翻訳活性に性差が見られる時期は、始原生殖細胞が性分化を開始する時期と重なることから、翻訳活性の性差が、始原生殖細胞の性分化に関わると考えている。現在、翻訳活性の性差が、始原生殖細胞の性決定に関わる遺伝子により制御されているのか、性分化に関わるのかを明らかにする研究を進めている。

【胚前極に形成された始原生殖細胞様細胞における遺伝子発現】

セリン・スレオニン・キナーゼである母性 *Tao1* タンパク質をコードする *tao1* mRNA は、生殖質に局在するが、胚後極に始原生殖細胞を形成する過程には関わらない。しかし、このRNA を胚の前極に人為的に局在させると、そこに始原生殖細胞と形態的によく似た細胞（PGC 様細胞）が形成される。PGC 様細胞の性質を種々のマーカー分子の発現で調べたところ、この細胞は、生殖質のコンポーネントを含まず、前極の体細胞と同じ性質を持つことを示唆する結果が得られた。さらに、PGC 様細胞に、生殖質のコンポーネントである *Nanos*、*Germ cell-less*、*Pgc* タンパク質をコードする mRNA を供給したところ、それぞれのタンパク質が PGC 様細胞中で合成され、機能することが分かった。現在、他の生殖質のコンポーネントとともに、これら分子を PGC 様細胞に供給したときに、この細胞が始原生殖細胞と同様の発生運命を示し、遺伝子発現も変化するかについて解析を行なっている。

【生殖系列の代謝的性質とその役割】

近年のがん細胞や哺乳類多能性幹細胞の研究を通じて、細胞内代謝は“ハウスキーピング”な働きを超えて、核酸やタンパク質の働きを制御することで、細胞の性質を左右するという知見が得られつつある。しかし、このような知見の多くの研究は哺乳類培養細胞より得られたものであり、生体内の各組織を構築する細胞の代謝状態およびその役割の多くは不明であった。そこでショウジョウバエ生殖系列をモデルとして、生殖系列が固有の代謝状態をもつかを検証した。生殖系列を対象としたメタボロミクスおよび遺伝子発現解析の結果、

生殖系列の代謝的特徴の一つとして、S-アデノシルメチオニン (SAM) の低産生状態を見出した。SAM はメチル基供与体として働くことで核酸やタンパク質のメチル化修飾を制御することが知られる重要な代謝物質である。生殖系列における SAM の低産生状態の意義の解明を試みた結果、SAM の低産生状態は、配偶子形成過程の老化を抑制する働きがあることを見出した。さらに、哺乳類の生殖組織および脳組織においても、加齢に伴う SAM 含有量の増加が引き起こされることを明らかにした。これらの結果は、生殖系列における SAM の低産生が、配偶子形成過程の老化を抑制する働きがあること、SAM が動物種・組織種を超えた組織老化の要因であることを強く示唆している。現在、他の代謝経路の働きも含め、生殖系列における細胞内代謝の意義の解明を試みている。

【個体の発育と成熟を司る神経内分泌機構】

個体が「こども (幼若期)」から「おとな (成熟期)」へ成長する過程において、様々なホルモンの働きによって生殖器が発達することが知られている。特に、卵巣や精巣でステロイドホルモン生合成が促進されるためには、栄養環境に応じて脳からホルモンが分泌されることが必須である。しかし、栄養環境に応じたステロイドホルモン生合成の調節機構には不明な点が多く残されている。

本研究では、昆虫ステロイドホルモンであるエクジステロイドの生合成調節において、幼虫発育の後期では、飢餓条件がエクジステロイド生合成を促進することに着目して、その分子機構の解明を目指している。生物が、成熟に必要な最低限の栄養を獲得した後に、余剰分の栄養の確保に務めるために、栄養はホルモン生合成を抑えるシグナルとして機能し、飢餓はホルモン生合成を促進するのは理にかなっている。そこで、発育段階に応じた栄養への応答の違いを明らかにし、個体の成長から成熟への変遷過程を分子レベルで理解することを目指している。

2021 年度研究業績

原著論文（全て査読あり）

R. Ota, M. Hayashi, S. Morita, H. Miura and S. Kobayashi (2021)

Absence of X-chromosome dosage compensation in the primordial germ cells of *Drosophila* embryos. *Scientific Reports* 11, 4890.

Y. Hayashi, A. Shibata, K. Kamimura and S. Kobayashi (2021)

Heparan sulfate proteoglycan molecules, syndecan and perlecan, have distinct roles in the maintenance of *Drosophila* germline stem cells.

Development, Growth and Differentiation, 63, 295.

M. Asaoka, Y. Sakamaki, T. Fukumoto, K. Nishimura, M. Tomaru, T. Takano-Shimizu, D. Tanaka and S. Kobayashi (2021)

Offspring production from cryopreserved primordial germ cells in *Drosophila*.

Communications Biology, 4, 1159.

M. Masukawa, Y. Ishizaki, H. Miura, M. Hayashi, R. Ota and S. Kobayashi (2021)

Male-biased protein expression in primordial germ cells, identified through a comparative study of UAS vectors in *Drosophila*. *Scientific Reports* 11, 21482.

Y. Naitou, G. Nagamatsu, N. Hamazaki, K. Shirane, M. Hayashi, M. Hayashi,

S. Kobayashi and K. Hayashi (2022)

Dual role of *Ovol2* on the germ cell lineage segregation during gastrulation in mouse embryogenesis. *Development*, 149, 1.

Y. Mizuno, E. Imura, Y. Kurogi, Y. Shimada-Niwa, S. Kondo, H. Tanimoto, S. Hückesfeld, M. J. Pankratz, R. Niwa (2021)

A population of neurons that produce hugin and express the diuretic hormone 44 receptor gene projects to the corpora allata in *Drosophila melanogaster*. *Development, Growth and Differentiation* 63249-261.

学会発表等

Yoshiki Hayashi, Ryo Kimura, Satoru Kobayashi

“Glycolysis inhibits primordial germ-cell development of *Drosophila*”

日本発生生物学会第 54 回大会 2021 年 6 月

浅岡美穂, 香山瑞生, 川越智貴, 林誠, 小林悟

“ショウジョウバエ初期 PGC では神経発生関連遺伝子が抑制されている”

新学術領域研究「配偶子インテグリティ」第 3 回領域会議・若手会議合同集会 2021 年 7 月

増川 柁樹、太田 龍馬、小林 悟

“ショウジョウバエ生殖細胞の発生過程における翻訳活性の性差”

新学術領域研究「配偶子インテグリティ」第 3 回領域会議・若手会議合同集会 2021 年 7 月

浅岡美穂, 西村香里, 酒卷由梨奈, 福元達也, 田中大介, 高野敏行, 小林悟

“ショウジョウバエ系統の凍結保存技術の実用化に向けて”

第 92 回日本動物学会 2021 年 9 月

Yoshiki Hayashi, Ryo Kimura, Satoru Kobayashi

“Glycolysis inhibits primordial germ-cell development of *Drosophila melanogaster*”

第 14 回日本ショウジョウバエ研究会 2021 年 9 月

浅岡美穂, 酒卷由梨奈, 福元達也, 西村香里, 都丸雅敏, 高野-清水敏行, 田中大介, 小林悟

“Cryopreservation of *Drosophila* primordial germ cells”

第 14 回日本ショウジョウバエ研究会 2021 年 9 月

林 良樹、木村 遼、小林 悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞の発生過程における解糖系の役割”

第 94 回日本生化学会大会 2021 年 11 月

Yoshiki Hayashi, Ryo Kimura, Satoru Kobayashi

“Glycolysis regulates primordial germ cell development of *Drosophila*”

第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年 12 月

Yoshiki Hayashi, Satoru Kobayashi

“Glycolysis regulates primordial germ cell development of *Drosophila*”

第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年 12 月

Ryo Kimura, Yoshiki Hayashi, Satoru Kobayashi

“Glycolysis regulates histone acetylation during primordial germ cell development of *Drosophila*”

第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年 12 月

太田龍馬, Fazratul Hasanah Binti Muzayyan, 森田俊平, 林誠, 小林悟
“ショウジョウバエ生殖系列における X 染色体の数に依存した性決定機構”
第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年 12 月

増川 柁樹、石崎 優木、林 誠、太田 龍馬、小林 悟
“ショウジョウバエ始原生殖細胞における翻訳活性の性差”
第 44 回日本分子生物学会年会 2021 年 12 月

小園 康広, 浅岡 美穂, 林 誠, 小林 悟
“ショウジョウバエ始原生殖細胞における母性 mRNA 安定化機構”
日本動物学会関東支部 第 74 回大会 2022 年 3 月

島田裕子、林信光、大原裕也、Hanif, Hassna、阿部奏仁、岡本直樹、丹羽隆介
“Starvation induces precocious maturation in *Drosophila melanogaster*.”
第 54 回日本発生生物学会 2021 年 6 月

上山拓己 (演者)、島田裕子、田中裕之、豊田敦、伊藤武彦、丹羽隆介
“内部寄生蜂 *Asobara japonica* の寄生成立を司る毒成分同定に向けたマルチオミクス解析”
第 92 回日本動物学会 2021 年 9 月

水野陽介 (演者)、井村英輔、黒木祥友、島田裕子、近藤周、谷本拓、Hucklesfeld, Sebastian、
Pankratz, Micheal J.、丹羽隆介
“キイロショウジョウバエの幼若ホルモン生合成器官に投射する神経細胞の同定”
第 92 回日本動物学会 2021 年 9 月

島田裕子、上山拓己、谷直紀、森一葉、藤井美月、清家和樹、片山南美、竹股ひとみ、谷直
紀、中村輝、田中裕之、豊田敦、伊藤武彦、丹羽隆介
“宿主ショウジョウバエの発生を操作する内部寄生蜂 *Asobara japonica* の毒の同定を目指し
て”
第 67 回トキシシンポジウム 2021 年 9 月

島田裕子、上山拓己、谷直紀、森一葉、片山南美、竹股ひとみ、藤井美月、桑原嵩佳、清家
和樹、中村輝、丹羽隆介
“A hijack strategy of an endoparasitoid wasp on *Drosophila* larvae: Toward the identification of
venom components in *Asobara japonica*”

第 14 回日本ショウジョウバエ研究会 2021 年 9 月

水野陽介（演者）、井村英輔、黒木祥友、島田裕子、近藤周、谷本拓、Hucklesfeld, Sebastian、Pankratz, Micheal J.、丹羽隆介

“Identification of the corpora allata-projecting neurons in adult *Drosophila melanogaster*”

第 14 回日本ショウジョウバエ研究会 2021 年 9 月

受賞

増川 柁樹 生命地球科学研究群長賞
 生物学位プログラム長賞
 つくばスカラシップ奨学金

アウトリーチ活動

小林 悟

愛知県立岡崎高等学校 特別課外活動の講義

“ショウジョウバエの生殖細胞の発生を制御する遺伝子群”（2021 年 8 月）

愛知県立岡崎北高等学校 特別課外活動の講義

“ショウジョウバエの生殖細胞の発生を制御する遺伝子群”（2021 年 11 月）

学会および社会的活動

小林 悟

茗溪学園中学校高等学校 SSH 運営指導委員

愛知県立時習館高等学校 SSH 評価委員

愛知県立岡崎高等学校 SSH 運営指導委員

財団法人大隅基礎科学創成財団 理事

読売新聞 全日本科学教育振興委員会委員・日本学生科学賞中央審査員

国立大学法人総合研究大学院大学 生命科学研究所 博士論文審査委員

林 良樹

日本発生生物学会 理事（キャリア支援担当）

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

小林悟

研究種目名：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究課題名：生殖細胞発生過程における選択機構の解明

課題番号：18H05552

研究期間：2018年度～2022年度

研究種目名：AMED ナショナルバイオリソースプロジェクト基盤技術整備プログラム

研究課題名：ショウジョウバエ凍結保存技術の高度化と検証

課題番号：AQD03076

研究期間：2020年度～2021年度

島田裕子

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：成長から成熟への変遷を司るコラゾニン神経の上流探索と機能解析

課題番号：21K06197

研究期間：2021年度～2023年度

公益財団法人武田科学振興財団「ライフサイエンス研究助成」

研究課題名：セロトニン生合成不全が個体発育と老化に与える影響の遺伝学的追究

研究期間：2019年度～2022年度

科学技術振興機構 さきがけ「生体における微粒子の機能と制御」領域

研究課題名：宿主内環境を支配する寄生蜂由来生体微粒子の機能解析

研究期間：2019年度～2022年度

林良樹

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：生殖系列のメチオニン代謝制御によるレトロトランスポゾンの抑制機構の解明

課題番号：18K06240

研究期間：2018年度～2021年度

林誠

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：母性 Ovo タンパク質によって制御される生殖細胞形成機構の解析

課題番号：18K06308

研究期間：2018年度～2021年度

研究種目名：挑戦的研究（萌芽）

研究課題名：光スイッチを用いた次世代型不妊魚作出法の開発

課題番号：21K19133

研究期間：2021年度～2023年度