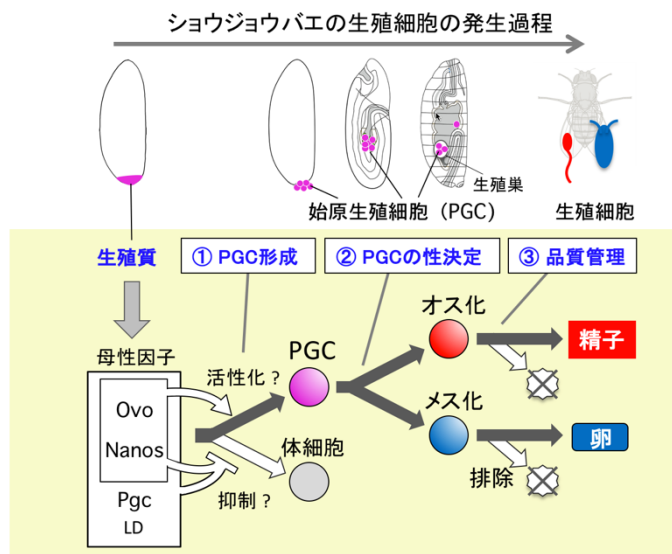


# 生殖ダイナミクス

## 「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



2022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

生命地球科学研究群

生物学学位プログラム

博士後期課程

増川 柁樹

博士前期課程

石橋 楓

小園 康広

川越 智貴

木村 遼

生物学類

影山 りお

佐藤 隆奈

三上 恭平

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  $\alpha$ -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。これらタンパク質は、生殖質の取り込み量が少ない始原生殖細胞中において、体細胞性遺伝子の発現を強固に抑制していることが明らかになった。このような始原生殖細胞において、*Nanos* と *Pgc* による体細胞性遺伝子の発現抑制が解除されると、始原生殖細胞は細胞突起を形成し、体細胞層へと進入する像が観察される。今後、この始原生殖細胞の発生運命を解析することにより、体細胞性遺伝子の発現抑制機構の生物学的意義を明らかにする予定である。

### 【胚前極に形成された PGC 様細胞の発生運命解析】

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。PGC 様細胞に、体細胞性遺伝子の抑制に関わる *Nanos*、*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、PGC 様細胞とともに、この細胞がどのような発生運命を辿るのかについて解析を行なっている。

### 【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 タンパク質が胚期の始原生殖細胞中で転写を活性化する遺伝子（母性 Ovo 下流遺伝子）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すると、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。さらに、母性 Ovo 下流遺伝子の機能を胚期において特異的に阻害した場合においても、成虫機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、胚期から生殖系列の細胞中でレトロトランスポゾンの発現抑制に機能する遺伝子群の転写を活性化することで、レトロトランスポゾンの発現を抑制していることが明らかになった。これにより、生殖系列のゲノムの品質保持に関わると考えられる。

### 【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、ショウジョウバエの始原生殖細胞は、X 染色体の数と体細胞の性に依存して、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。しかし、始原生殖細胞の性決定・分化機構の全貌は不明である。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。また、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ことを示唆する予備的な結果も得られている。現在、この翻訳活性の性差が、性分化に関わるのかを明らかにする研究を進めている。

### 【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、幼虫が、成熟に必要な最低限の栄養を獲得した後に飢餓に曝されることによって、成熟 (蛹化) のタイミングが早まる現象に着目し、その分子機構の解明を目指している。興味深いことに、飢餓シグナルによって、ステロイドホルモンを活性型分子に変換する酵素遺伝子 *shade*、ならびにステロイドホルモンに応答するシグナル伝達経路の遺伝子群の発現が顕著に増加することを見出した。さらに、脂肪組織で発現するインスリン様分子 *dilp6* も関与することが示唆された。一連の実験結果から、飢餓シグナルは、ホルモン生合成器官に作用するのではなく、ホルモンを受容する末梢の脂肪組織の感受性を高めることによって、成熟を加速させること示唆された。このように、本研究では、個体の成長から成熟への変遷が、栄養環境によって柔軟に変化する分子機構によって支えられていることがわかりつつある。

## 2022 年度研究業績

### 原著論文 (全て査読あり)

S. Yamakawa, Y. Hayashi, K. Kako, Y. Sasakura, Y. Morino, H. Wada (2022)  
Mechanism underlying retinoic acid-dependent metamorphosis in the starfish. *Developmental Biology*, 492, 119-125

Y. Hayashi, S. Kashio, K. Murotomi, S. Hino, W. Kang, K. Miyado, M. Nakao, M. Miura, S. Kobayashi, M. Namihira (2022)  
Biosynthesis of S-adenosyl-methionine enhances aging-related defects in *Drosophila* oogenesis. *Scientific Reports*, 12:5593

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.

T. Kamiyama, Y. Shimada-Niwa, H. Tanaka, M. Katayama, T. Kuwabara, H. Mori, T. Itoh, T. Toyoda, R. Niwa (2022)  
Whole-genome sequencing analysis and protocol for RNA interference of the endoparasitoid wasp *Asobara japonica*.  
*DNA Research*, 29, dsac019, DOI: 10.1093/dnares/dsac019

R. Fujihara, N. Katayama, S. Sadaie, M. Miwa, G. A. S. Matias, K. Ichida, W. Fujii, K. Naito, M. Hayashi, G. Yoshizaki (2022)  
Production of germ cell-less rainbow trout by *dead end* gene knockout and their use as recipients for germ cell transplantation.  
*Marine Biotechnology*, 24, 417-429.

### 学会発表等

太田龍馬、Fazratul Hasanah Binti Muzayyan、森田俊平、林誠、小林悟  
“Sex determination depending on X-chromosome dosage in primordial germ cells of *Drosophila*”  
日本発生物学会第 55 回大会 P122B 金沢 2022 年 5 月

林良樹、檜尾宗志朗、室富和俊、日野信次朗、康宇鎮、宮戸健二、中尾光善、三浦正幸、小

林悟、波平昌一

“Biosynthesis of S-adenosyl-methionine enhances aging-related defects in *Drosophila* oogenesis”,  
第 15 回日本エピジェネティクス研究会年会、九州大学（福岡）、2022 年 6 月

林 良樹、小林 悟

“Glycolysis regulates Histone Acetylation during primordial germ cell development of *Drosophila*”,  
第 15 回日本エピジェネティクス研究会年会、九州大学（福岡）、2022 年 6 月

林 誠, 八幡志央美, 海野太一, 藤原亮, 小林悟, 吉崎悟朗, 八幡穰

“自家蛍光を利用した精原細胞のラベルフリー分取法の確立”

令和 4 年度日本水産学会秋季大会、128、宮崎 2022 年 9 月

Toshiyuki Takano-Shimizu, Kuniaki Saito, Takeshi Awasaki, Kaori Nishimura, Shiori Yamamoto,  
Masatoshi Tomaru, Miho Asaoka, Satoru Kobayashi, Daisuke Tanaka

“Development of cryopreservation method for *Drosophila* stocks in the National BioResource  
Project (NBRP) in Japan “

The 13th International Meeting of the Asian Network of Research Resource Centers 2022 年 11 月

石橋 楓、林 誠、白根 健次郎、林 克彦、小林 悟

“ショウジョウバエ卵巣における Ovo タンパク質下流遺伝子の同定”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

林 良樹、木村 遼、影山 りお、小林 悟

“解糖系によるショウジョウバエ生殖系列の発生制御”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

増川 柁樹、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形成機構”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ（千葉）、2022 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 の安定化の解析”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

浅岡美穂, 香山瑞生, 川越智貴, 林誠, 小林悟

“始原生殖細胞の発生過程における体細胞性遺伝子の発現抑制の役割”



第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

川越智貴、浅岡美穂、香山瑞生、林誠、小林悟 “ショウジョウバエ胚における始原生殖細胞の不均一性”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

木村 遼、林 良樹、小林 悟

“ショウジョウバエ始原生殖細胞における系統系によるヒストンアセチル化制御とクロマチン構造への影響評価に向けて”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

影山 りお、林 良樹、小林 悟

“ショウジョウバエ生殖系列の発生過程におけるヒストンラクチル化修飾の観察”

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 12 月

林誠、八幡志央美、海野太一、藤原亮、小林悟、吉崎悟朗、八幡穰

“自家蛍光シグナルの多変量解析データをもとにした精原細胞のラベルフリー分取法”

令和 5 年度日本水産学会春季大会、東京海洋大学 2023 年 3 月

Kozono Yasuhiro

“Analysis of the maternal mRNA stabilization in *Drosophila* primordial germ cell”

TSUKUBA GLOBAL SCIENCE WEEEEK 2022、つくば国際会議場、2022 年 9 月

林史子、三輪美砂子、林誠、吉崎悟朗

“ニジマス生殖細胞における Nanos2 タンパク質の発現と幹細胞能との関係”

令和 5 年度日本水産学会春季大会、東京海洋大学、2023 年 3 月

島田裕子、上山拓己、森一葉、丹羽隆介

内部寄生蜂由来毒成分による 宿主ショウジョウバエ幼虫の上皮組織の攪乱.

第 95 回日本生化学会大会、名古屋、2022 年 11 月

島田裕子

さきがけ「生体における微粒子の機能と制御」第 6 回成果報告会～微粒子は語る～

第 45 回日本分子生物学会年会、幕張メッセ、2022 年 11 月

## 受賞

増川 柁樹 次世代研究者挑戦的研究プログラム 研究奨励費

島田 裕子 第6回大隅基礎科学創成財団 研究助成

## 特許

林 誠

林 誠, 岩崎 佳子, 林 哲太郎, 海老澤 昌史, 笹川 洋平, 芳村 美佳, 二階堂 愛, 市田 健介,  
吉崎 悟朗

宿主生殖腺への生着能を有する生殖細胞識別マーカー

特許第 7178700 号 2022 年

市田 健介, 吉崎 悟朗, 矢澤 良輔, 川村 亘, 林 誠

生殖細胞追跡用抗体

特許第 7068681 号 2022 年

## 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” (2022 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” (2022 年 7 月) (2023 年 3 月)

林 良樹

つくば市科学フェスティバル

“生物ひろば” の企画・運営 (2022 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

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ズ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

公益財団法人 大隅基礎科学創成財団 第6回研究助成

研究課題名：寄生蜂の生存戦略を支える分子機構の解明

研究期間：2022年度～2024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～2022年度

林誠

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