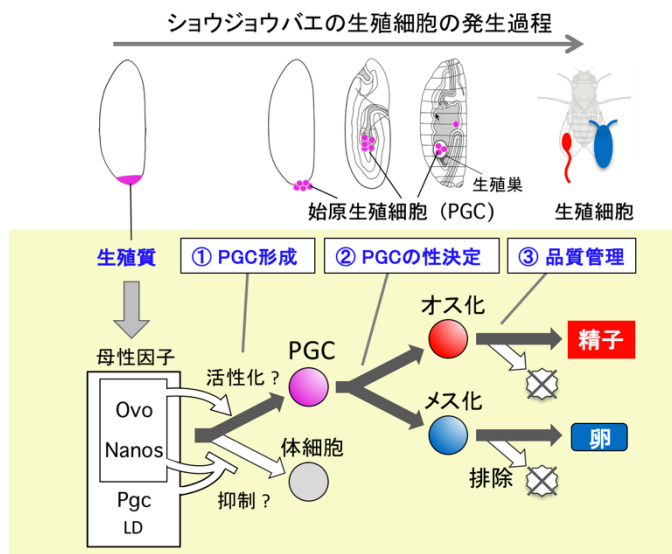


生殖ダイナミクス

「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することができると考えている。さらに、生殖系列の品質管理機構や性の決定・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



2024年 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 (12/16 付け独立准教授へ昇任)

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

小園 康広

博士前期課程

佐藤 隆奈

三上 恭平

技術補佐員

渡邊 満美子

秘書

古江 衣美

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的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。また、生殖系列の品質管理機構や性の決定・分化機構についても研究を展開している。

【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。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。すなわち、*Nanos* と *Pgc* は、体細胞性遺伝子の発現を抑制することで、始原生殖細胞と体細胞の物理的な分離を促していると考えられる。

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 を供給すると、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、胚期から生殖系列中でレトロトランスポゾンの発現を抑える遺伝子群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。

【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、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結果も得られている。現在、この翻訳活性の性差の役割を明らかにする研究を進めている。

【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。

2024 年度研究業績

原著論文 (全て査読あり)

K. Mikami, Y. Kozono, M. Masukawa and S. Kobayashi (2025)

A fast *in situ* hybridization chain reaction method in *Drosophila* embryos and ovaries. *Fly*, doi.org/10.1080/19336934.2024.2428499.

Y. Hayashi, B. Sato, R. Kageyama, K. Miyado, D. Saito, S. Kobayashi (2025) Comprehensive observation of histone lysine lactylation during gametogenesis of *Drosophila melanogaster*.

Developmental Dynamics,

doi.org/10.1002/dvdy.70010.

M. Hayashi, Y. Koga, Y. Kozono, S. Kobayashi (2025)

Maternal Ovo represses the expression of transposable elements in adult ovaries.

Developmental Biology, 523, 111-114. DOI: 10.1016/j.ydbio.2025.04.014

総説

島田裕子、丹羽隆介

「寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの宿主飼い殺し戦略の極意」

科学 94(11) 993-998、2024 年 11 月

学会発表等

小園康広, 「Nanos タンパク質による生殖顆粒の構造・機能変化の解析」(ポスター)、2023 年度サントリー生命科学財団生物有機化学研究所報告会, 大阪, 2024 年 6 月 17 日,

Miho Asaoka, Satoru Kobayashi, Yasushi Hiromi

A novel stromal cell population mediates BMP signaling from niche cells to germline stem cell precursors. The 57th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists 2024 年 6 月 20 日

Y. Kozono, M. Asaoka, M. Hayashi and S. Kobayashi

Analysis of changes in the structure and function of germ granules by Nanos during *Drosophila* embryogenesis, 第 25 回日本 RNA 学会年会, 東京, 2024 年 6 月 27 日

西村香里, 浅岡美穂, 小林悟, 栗崎健, 都丸雅敏, 高野敏行
異種移植で明らかになるショウジョウバエの交尾後の貯精システムの進化,
日本遺伝学会第 96 回大会 2024 年 9 月 6 日

浅岡美穂, 川越智貴, 林誠, 香山瑞生, 小林悟
ショウジョウバエ生殖細胞発生過程における体細胞からの一時的隔離の役割,
日本動物学会第 95 回大会 2024 年 9 月 12 日

印南花奈, 前田隼佑, 金沢幹太, 村田悠太, 脇田峻太郎, 林誠, 小林悟, 太田龍馬
ショウジョウバエ始原生殖細胞のメス化における *CG1677* の役割,
日本動物学会第 95 回大会 2024 年 9 月 12 日

Kaori Nishimura, Miho Asaoka, Satoru Kobayashi, Masatoshi Tomaru, Takeshi Awasaki, Toshiyuki
Takano-Shimizu-Kouno
Post-xenotransplantation defects in sperm storage in female storage organ.
The 16th Japanese Drosophila Research Conference (JDRC) 2024 年 9 月 17 日

小園康広, 浅岡美穂, 林誠, 小林悟
ショウジョウバエ胚発生過程での P-body 様生殖顆粒における Nanos タンパク質の役割,
第 47 回日本分子生物学会年会, 博多, 2024 年 11 月 28 日

三上恭平, 小園康広, 増川柁樹, 小林悟
ショウジョウバエ胚および卵巣における迅速な *in situ hybridization chain reaction* 法の開発,
第 47 回日本分子生物学会年会, 博多, 2024 年 11 月 27 日

増川柁樹, 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雌雄差
日本動物学会第 95 回長崎大会 2024 年 12 月 19 日

小園康広
ショウジョウバエ P-body 様生殖顆粒における Nanos タンパク質の解析,
第 5 回有性生殖研究会, 三島, 2025 年 3 月 7 日

浅岡美穂, 川越智貴, 香山瑞生, 林誠, 小林悟
ショウジョウバエにおける生殖系列の体細胞からの一時的隔離の役割
第5回有性生殖研究会「生殖研究の異分野融合」 2025年3月7日

小園康広, 三上恭平, 増川柁樹, Qingyin Qian, 岡村響, 星野涼, 上山拓己, 頼本隼汰, 佐奈喜
祐哉, 林悠, 丹羽隆介, 小林悟
迅速な *in situ hybridization chain reaction* 法の開発,
日本動物学会関東支部第77回大会, つくば, 2025年3月15日

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” (キャンセル)

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” (キャンセル)

島田裕子
「寄生蜂ニホンアソバラコマユバチの生存戦略の解明に向けたマルチオミクス解析」
2024年日本動物学会関東支部公開講演会「動物のさまざまなコミュニケーションー細胞から
個体レベルまで」、東京大学、2024年7月

学会および社会的活動

小林悟
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
愛知県立岡崎北高等学校 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

科学研究費補助金・外部資金獲得状況

小林 悟

研究種目名：学術変革領域研究（A）

研究課題名：ショウジョウバエ始原生殖細胞における piRNA 産生開始機構

課題番号：24H02030

研究期間：2024 年度～2025 年度

島田裕子

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：飢餓に応答して早熟を促すステロイドホルモンシグナル伝達経路の解明

課題番号：24K09466

研究期間：2024 年度～2026 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

科学技術振興機構 創発的研究支援事業

研究課題名：寄生蜂毒研究に基づく上皮選択的な細胞死誘導の解明

研究期間：2023 年度～2025 年度

浅岡美穂

研究種目名：基盤研究（C）

研究課題名：ショウジョウバエ生殖幹細胞の形成に関わる新規間質細胞の機能解析

課題番号：23K05778

研究期間：2023 年度～2026 年度