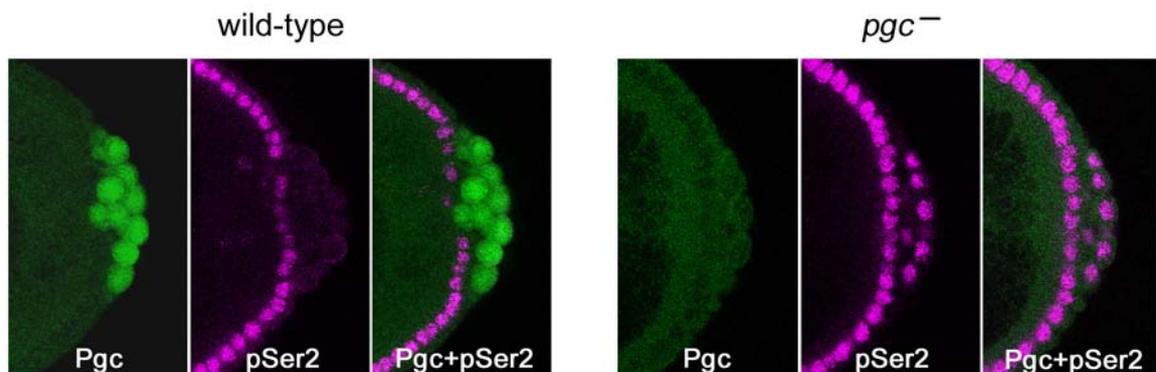


生殖細胞形成における体細胞遺伝子発現抑制機構に新たな知見

平成 20 年 1 月 28 日

卵子や精子といった生殖細胞は次世代を形成できる唯一の細胞であり、生命の最も根源的な役割を担う細胞といえる。そのため、多細胞生物の発生過程において、生殖細胞は他の体細胞と明確に区別され、その性質を維持しなければならない。発生初期に周囲で行き交う体細胞分化誘導シグナルから身を守るために、多くの動物種の生殖細胞ではゲノム全体にわたって転写が一時的に抑制され、いわば無反応な状態が保たれている。mRNA の転写を担う RNA ポリメラーゼ II (RNAP II) は、C-terminal domain と呼ばれる繰り返し配列中の 2 番目のセリン残基 (CTD Ser2) にリン酸化を受けることでその活性を発揮するが、線虫とショウジョウバエの生殖細胞形成においては、このリン酸化が抑制されていることが知られている。しかし、このリン酸化の抑制がどのようにして実現しているのかは未解明のままだった。

理研 CDB の羽生 (中村) 賀津子研究員および園部 (野嶋) 浩子テクニカルスタッフ (共に生殖系列研究チーム、中村輝チームリーダー) らは、ショウジョウバエをモデルにした研究で、Pgc (Polar granule component) と呼ばれるタンパク質が、生殖細胞形成における転写抑制に必須であることを明らかにした。Pgc は、RNA ポリメラーゼ II CTD Ser2 のリン酸化を抑制することで、ゲノム全体の転写を抑制しているという。この研究成果は、*Nature* 誌の 2008 年 1 月号に掲載された。



Pgc (緑) を発現する極細胞では RNA ポリメラーゼ II CTD Ser2 のリン酸化 (赤) が抑制されている (左、wild-type)。一方で、Pgc を欠損する極細胞では、Ser2 のリン酸化が抑制されていない (右、*pgc*⁻)。

多くの動物種において、生殖質と呼ばれる卵細胞内の特殊な領域が生殖細胞形成に重要な役割を果たしている。ショウジョウバエでは、生殖質を受け継いだ胚後端の数十個の細胞 (極細胞) が将来生殖細胞に分化する。中村らは、この生殖質に含まれるタンパク質や RNA に注目し、生殖細胞形成に必須な因子の一つとして *pgc* RNA を同定していた。

今回の研究は中村らの思いがけない発見から始まった。当初、*pgc* RNA はタンパク質をコードしないと考えられていたが、*Drosophila* 属のゲノム比較をしたところ、実は属内で保存された小さなタンパク質をコードしている可能性が高いことを発見した。そこで、免疫染色によって Pgc タンパク質の発現を調べると、初期の極細胞で強く発現し、発生が進むにつれて次第に消失していくことがわかった。

次に彼らが Pgc の機能を欠損させた変異体を作成したところ、極細胞における CTD Ser2 のリン酸化が抑制できず、これらの細胞は発生中期以降に消失してしまうことが示された。この表現型は正常な Pgc を発現させることで回復した。さらに、Pgc を胚頭部の体細胞で異所的に発現させたところ、CTD Ser2 のリン酸化が抑制され、頭部特異的な遺伝子の発現が低下することが示された。また、ショウジョウバエの培養細胞でも同様の実験をしたが、やはり Pgc の発現と CTD Ser2 のリン酸化は反対の関係にあることが示された。これらの結果は、Pgc が体細胞においても機能できることを示しており、Pgc が RNAPII 依存的な転写の基本因子の制御に関わっていることを強く示唆すると考えられた。

続いて、Pgc が CTD Ser2 のリン酸化を抑制するメカニズムを明らかにしようと、幾つかの実験を行なった。CTD Ser2 のリン酸化を担う因子として、Cdk9 と CycT からなる P-TEFb 複合体が知られる。そこで彼らは、これらの分子と Pgc との相互作用を解析した。その結果、*in vitro* および *in vivo* において、Pgc は Cdk9 を介して P-TEFb 複合体に結合していることが示された。また、P-TEFb を極細胞で過剰発現させると、Pgc の機能欠損と同様の表現型を示した。このことは、Pgc が P-TEFb への結合を介して CTD Ser2 のリン酸化を抑制していることを示唆していた。一方で、Pgc の結合は Cdk9 の酵素活性を抑制しないことを示す結果も *in vitro* の実験で得られた。

そこで彼らは、正常な体細胞組織と Pgc を発現させた組織における P-TEFb の局在を比較することにした。すると興味深いことに、Pgc を発現する細胞では、P-TEFb の転写活性部位への集積が大きく減少していた。この結果は、Pgc は、P-TEFb への結合によってその酵素活性を阻害しているのではなく、プロモーター領域への局在を阻害することで転写を抑制している、新しいタイプの P-TEFb 阻害因子であることを示していた。

線虫では、PIE-1 と呼ばれる生殖質タンパク質が P-TEFb に結合し、転写抑制に機能している。羽生（中村）氏は、「P-TEFb の阻害が線虫とショウジョウバエの生殖細胞形成における共通メカニズムであることを示しています。ところが、線虫の PIE-1 とショウジョウバエの Pgc は配列上は全く似ていません。生殖細胞形成という必須の役割を担うにもかかわらず、それぞれのタンパク質が独自に進化しているのは非常に不思議です」、と話す。