

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 18 日現在

機関番号：12101

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20116003

研究課題名（和文） 培養系を用いたショウジョウバエ GSC/ニッチ・システムの解明と分化系の開発

研究課題名（英文） Development of *in vitro* approaches of GSC/niche in *Drosophila*

研究代表者

仁木 雄三 (YUZO NIKI)

茨城大学・理学部・准教授

研究者番号：00134164

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：ショウジョウバエ 細胞培養 生殖幹細胞 ニッチ 再構築 分化

1. 研究計画の概要

多細胞生物の成体の組織において、血液、皮膚、生殖細胞などが継続的に生産され続けているのは、それぞれに自己再生能と分化能を持つ未分化な幹細胞が存在しているためである。これらの幹細胞はニッチと呼ばれる特別な微小空間で維持されていることが明らかになりつつある。ショウジョウバエの生殖幹細胞（GSC）とニッチは、雌雄ともに形態的に容易に同定できるため、GSC/ニッチ・システムの最も優れたモデルである。我々は、ショウジョウバエの GSC/ニッチを *in vitro* で再構築し、始原生殖細胞が GSC に移行するメカニズムや GSC の維持・分裂におけるニッチ細胞との細胞間相互作用や、分化過程を細胞および分子レベルで明らかにする。

2. 研究の進捗状況

メスのニッチ細胞由来の安定的な細胞株を樹立することに成功した。既に当研究室で樹立した卵巣性体細胞幹細胞の細胞株を用いて、これらの細胞で発現している遺伝子の網羅的な解析、プロファイリングを行った。その結果、ニッチ細胞で発現が際立っている遺伝子についてその機能を明らかにした。また、始原生殖細胞の分裂に関与している成長因子の役割についても明らかにした。さらに、メスでは *in vitro* で卵原細胞特有の同調的不完全分裂を誘導するシステムを構築した。オスでは、精原細胞の不完全分裂、減数分裂さらには最終的な精子へ分化する過程を *in vitro* で再現し、精原細胞の分裂・分化過程には、エクダイ

ソンが重要な役割を果たしていることを明らかにした。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

in vitro で、ショウジョウバエの GSC/ニッチを再構築し、幹細胞とニッチ細胞の相互作用および分化過程を解明することを目標とし、以下の成果を得た。

(1) 少数の細胞及び組織からニッチ細胞あるいは生殖幹細胞を培養し、細胞株化する方法を確立した。

(2) その結果、メス配偶子幹細胞のニッチ細胞である Cap 細胞およびエスコート細胞由来の細胞株の作成に成功した。

(3) ニッチ細胞、エスコート幹細胞および濾胞幹細胞由来の細胞で発現する遺伝子を網羅的に解析し、これらの細胞で発現する遺伝子やシグナル伝達様式の相違を明らかにすることができた。

(4) メス始原生殖細胞の幼虫期での成長因子の役割を明らかにした。

(5) ハーバード大医学部との共同研究により、OSS 細胞で機能する non-coding RNA を明らかにした。

(6) 培養細胞への遺伝子導入法を確立した。

4. 今後の研究の推進方策

(1) オスのニッチ細胞由来の細胞株の樹立を目指す。

(2) オスのニッチ細胞で発現する遺伝子のプロファイリングを行い、メスのデータと比較し、雌雄間のニッチの共通遺伝子や性特異的遺伝子を同定する。

(3) 精子形成におけるエクダイステロイド

のシグナル伝達の詳細を明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計3件)

1. Takuya Sato, Jun Ogata and Yuzo Niki (2010) BMP and Hh signaling affects primordial germ cell division in *Drosophila*. *Zool. Sci.* 査読有
2. Niki Y. (2009) Culturing Ovarian Somatic and Germline Stem Cells of *Drosophila*. *Current Protocols in Stem Cell Biology.* (2009) 10:2E.1.1-2E.1.9. 査読有
3. Nelson C. Lau, Nicolas Robine, Raquel Martin, Wei-Jen Chung, Yuzo Niki, Eugene Berezikov, and Eric C. Lai Abundant primary piRNAs, endo-siRNAs and microRNAs in a *Drosophila* ovary cell line. *Genome Research* (2009) 19: 1776-1785. 査読有

〔学会発表〕(計10件)

1. Jun Ogata, Tomohiro Yokokura, Yuzo Niki Role of 20-hydroxyecdysone during spermatogenesis in *Drosophila*. 第43回日本発発生物学会 2010年6月20日、京都 京都国際会館
2. Yusuke Iizumi and Yuzo Niki (2010) Initiation of oogenesis in *Drosophila in vitro* 第43回日本発発生物学会 2010年6月20日、京都 京都国際会館
3. Hiroshi Uetake and Yuzo Niki Genetic manipulation and cloning of culture cells derived from ovarian somatic stem cells in *Drosophila*. 第43回日本発発生物学会 2010年6月20日、京都 京都国際会館
4. 仁木雄三 (2009) ショウジョウバエ GSC / ニッチ・システムの *in vitro* 系の構築 第80回 日本動物学会 2009年9月18日、静岡、静岡グランシップ
5. 佐藤卓也・仁木雄三 ショウジョウバエの始原生殖細胞の分裂に関する成長因子 第45回 日本節足動物発生学会大会 2009年6月6日、茨城 ホテルニュー白亜紀
6. 植竹裕・仁木雄三 ショウジョウバエ卵巣由来の体細胞幹細胞株へ遺伝子導入法の開発 第45回 日本節足動物発生学会大会 2009年6月6日、茨城 ホテルニュー白亜紀
7. Hiroshi Uetake and Yuzo Niki Genetic manipulation of cultured somatic and germline stem cells in *Drosophila* 第42回日本発発生物学会 2009年5月30日、新潟 朱鷺メッセ
8. Takenori Arai and Yuzo Niki Pole cells

of *Drosophila* in culture. 第42回日本発発生物学会 2009年5月30日、新潟 朱鷺メッセ

9. Jun Ogata and Yuzo Niki Live imaging of cellular interactions with primordial germ cells and gonadal soma. 第42回日本発発生物学会 2009年5月30日、新潟朱鷺メッセ
10. Yusuke Iizumi, Takafumi Yamaguchi, Ding Xiao Dong and Yuzo Niki (2009) Developmental analysis of the number of incomplete cytokinesis and its effect on the formation of egg chamber of *Drosophila*. 第42回日本発発生物学会 2009年5月30日、新潟 朱鷺メッセ

〔図書〕(計2件)

1. 仁木雄三 ショウジョウバエ配偶子幹細胞/ニッチの試験管内での再構築と分化誘導 細胞工学 2010年7月号 学研メディカル秀潤社
2. 仁木雄三 配偶子幹細胞の細胞株化の紆余曲折 細胞工学 2010年7月号 学研メディカル秀潤社