

幹細胞の不均等分裂に関与する遺伝子の単離を目的とした精巣中の遺伝子発現データベースの作成

ゲノム非対称性グループ 小宮透、谷川葉子、是永知子

幹細胞の分裂と遺伝子発現のメカニズムを明らかにするためにはまず組織においてどの細胞が幹細胞であるかを明らかにする必要がある。そのために多検体*in situ* hybridization法を用いて幹細胞で発現している遺伝子の単離を目的としたスクリーニングを行っている。スクリーニングの結果とともに付随的に得られる網羅的な遺伝子の細胞レベルでの発現情報の利用について考察したい。

1. はじめに

我々の表皮、消化管上皮、精巣の精子などは細胞の消費、死滅にともなって常に消耗した分を補う形で「幹細胞」から新しい細胞が供給される。概念的な仮説では幹細胞は定常状態においては分裂の際に自分自身である幹細胞と将来最終分化を迎える運命の細胞とに不均等に分裂すると考えられており、幹細胞の数は常に一定である。いっぽう、表皮が損傷を受けた場合などは幹細胞は均等に分裂することによってその数を増加させている。このように幹細胞の分裂は環境に応じて様式を変化させるという適応能を持っており、この分裂の不均等性と均等性の分子生物学的メカニズムを明らかにすることが我々の研究の大きな目的である。そこでまずは組織中の幹細胞のマーカー遺伝子を単離することを目的として、多検体*in situ* hybridization法を用い、マウス精巣、小腸などの幹細胞が存在すると予想される領域で発現する遺伝子をしらみつぶ的にスクリーニングすることで目的の遺伝子の単離を試みている。

2. 研究の内容

精巣においてはおよそ600種の独立した遺伝子の発現像を得ている。マウスでは未分化な幹細胞であるspermatogoniaからspermへと約44日をかけて整然と精子形成としての分化が進行するので、それぞれの分化段階においてどのような遺伝子が発現するのかを網羅的な遺伝子の発現という視点でとらえることができる。残念

ながら幹細胞特異的に発現する遺伝子は今のところ取られていないが、分化段階特異的な発現パターンを示す遺伝子が多数得られている。現在精巣での遺伝子発現のデータベース化を進めている。

小腸上皮では陰窩 (crypt) 底部の未分化幹細胞が管腔側に移動するのに従い吸収上皮、杯状細胞 (goblet cell) 等に分化し最終的には絨毛 (villi) の先端から脱落する。幹細胞の存在が予想される陰窩下部で発現する遺伝子については既知・未知を含めて20種類以上のESTを単離している。

いっぽう高等生物以外にも初期発生が幹細胞的な分裂を行う生物が知られている。線虫は比較的少数の細胞で成り立ち、それらの発生における細胞系譜が明らかにされている、ほぼすべてのゲノム配列が決定している、遺伝子の数がおおよそ1万9千と少ないことなど、実験系としては有利な点が多い。そこで線虫の幼虫において幹細胞的分裂を行うV cell 特異的な発現を示す遺伝子の単離も進めており現在まで2種類の遺伝子を単離している。

3. 今後の展望

幹細胞の存在が示唆される領域で発現している遺伝子についての詳細な解析を進めることによって、将来的には幹細胞のin vivoでの細胞分裂と染色体分裂の様式を明らかにしたいと考えている。

参考文献

1. Ko MS. An 'equalized cDNA library' by the reassociation of short double-stranded cDNAs. *Nucleic Acids Res* **18**, 5705 (1990)
2. Komiya T. et al. A large-scale *in situ* hybridization system using an equalized cDNA library. *Analytical Biochem.* **254**, 23 (1997)
3. Komiya T. et al. Cloning of the novel gene intelectin, which is expressed in intestinal paneth cells in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* **251**, 759-762, (1998).
4. Komiya T. et al. Cloning of the novel gene gob-4, which is expressed in intestinal goblet cells in mice. *Biochim Biophys Acta.* **1444**, 434-438. (1999).
5. Komiya T. et al. Cloning of the novel gene gob-5, which is expressed in intestinal goblet cells in mice. *Biochem Biophys Res Commun.* **255**, 347-51. (1999).
6. 小宮透 96ウェル用のDIG標識RNAプローブ作成法 *細胞工学* **18**, 125 (1999)
7. 小宮透 96ウェルで行う切片のin situハイブリダイゼーション *細胞工学* **18**, 405 (1999)