

Magoh—ショウジョウバエ胚極性形成に必要な *mago nashi* の マウス相同遺伝子—の初期胚発生過程での発現

ゲノム非対称性グループ

研究員

岩井裕希子

1. はじめに

生物の発生において、物質の非対称的な分布が細胞自身や組織の分化を導くことは広く見られる現象である。ショウジョウバエ、線虫、カエルなどでは、胚の体軸形成に受精卵内での母性因子の局在（＝非対称的な分布）が深く関わっていることが明らかにされ、分子生物学上の知見も多い。ところが、哺乳動物の初期胚では受精卵の極性と胚の体軸はあまり関係がないと考えられてきた。たとえば、マウスでは、母性由来の遺伝子産物はその大部分が受精後から2細胞中期までに分解され、胚自体の遺伝子産物に取って代わられる。また、8細胞期まで各割球は等しい分化能を持つ。2・4細胞期の1割球はマウス個体まで発生できるし、8細胞期の割球は他の割球と組み合わせてキメラ個体が得られる。8細胞期の後期になると細胞接着が発達して割球がくっつき合う「コンパクション」が起こり、内側と外側の細胞という違いが生じてくる。近年になって、形態的なマーカーを利用した詳細な観察の結果から、マウスでも受精卵とその後の胚の体軸に相関があるとの報告がなされている¹⁾。本プロジェクトではマウス胚発生初期（着床前発生段階）における遺伝子発現パターンを細胞分裂ごとに調べるために各細胞期の EST ライブラリを作成し配列データを公開してきた²⁾。このライブラリから、発生初期の体軸形成に関連性のある既知の遺伝子について調べたところ、ショウジョウバエ胚の体軸形成に必要な *mago nashi* (*mago*) 遺伝子のマウス相同遺伝子 (*Magoh*) が見つかった。

Mago nashi (*mago*) は、ショウジョウバエ胚の前後軸と始原生殖細胞形成に必要な決定因子を含む極細胞質の形成と局在に関わる posterior group 遺伝子群の一つである。*mago* 突然変異系統の胚では、極顆粒の後極の局在が失われ、腹部形成異常・生殖細胞欠損が見られる^{3), 4)}。また、*mago* は、卵母細胞の背腹軸形成過程でも必要であることが分かっている。*mago* 突然変異系統の卵母細胞では微小管ネットワークの再編成が乱れて、正常発生で見られる前方背側への核の移動が起きなくなる。さら

に、致死突然変異系統が得られていることから、生存への関わりも考えられる。*Mago* 蛋白質のアミノ酸配列は生物界に広く保存されているが、それだけでなく、ハエと線虫では、機能的にも相同であることが、証明されている⁵⁾。しかし、*Mago* 蛋白質の生化学的な機能は殆ど明らかにされていない。

我々は、マウスの胚発生初期過程での *Magoh* 遺伝子の役割を明らかにしようと考え、まず、その発現パターンを調べた。また、*Magoh* 蛋白質の細胞内分布の観察を試みた。

2. 結果及び考察

ステージ特異的 EST ライブラリから、*Magoh* 配列を含むクローンは未受精卵、受精卵、16細胞期に見られた。実際の発現を RT-PCR により確かめた。*Magoh* 全長を増幅するプライマーを用いて、着床前発生過程全体で同一サイズの PCR 産物が得られた。PCR の鋳型として、同数の胚から抽出した mRNA を用いた結果、発生段階によって、*Magoh* の発現量には変動があるように見られた。また、マウス成体の組織（卵巣、精巣、脳、脾臓）でも、RT-PCR により *Magoh* の発現が検出された。

次に、精製抗 *Magoh* ペプチド抗体を使用してイムノプロット法によりマウス初期胚（着床前）とマウス成体組織で *Magoh* 蛋白質の検出を行った。胚発生では、*Magoh* 蛋白質は未受精卵から胚盤胞まで検出されたが、8細胞までと比べて、胚盤胞から検出された蛋白質が多かった。このことから、マウス卵割期の *Magoh* 蛋白質は母性的に発現し、さらに発生段階によって調節されていると考えられる。成体では、*Magoh* 蛋白質は、調べた組織全て（卵巣、精巣、脳、脾臓）で検出された。しかし、検出されたバンドの強さは組織によって異なっており、脾臓で特に強かった。このことは、*Magoh* は成体組織でも発現していることを示しており、また、組織によりその発現レベルはコントロールされていることが考えられる。

Magoh 蛋白質の細胞内局在を調べるために、GFP レポーター遺伝子を胚に導入した。*Magoh* 蛋白質のアミノ末端側に GFP が位置するよう

に *Mago* 遺伝子を組み込んだ組み替えプラスミド (*Mago::GFP*) を作製し、このプラスミドを受精卵の雄性前核に注入して、GFP の発現を蛍光顕微鏡で観察した。*Mago::GFP* を注入した胚では、2細胞期から8細胞胚まで、核に蛍光が観察された。コンパクト後は蛍光は弱くなり、胚盤胞ではほとんど見られなくなった。この結果は、*Mago* が核で働く可能性を示し、ショウジョウバエ卵形成で見られた *Mago* 蛋白質の局在の報告^{5),6)}と一致している。

3. おわりに

生物界に広く保存されている *mago nashi* 遺伝子のマウス相同遺伝子 (*Mago*) について、その発現パターンを着床前の初期胚発生過程を中心に調べた。転写産物、蛋白質ともに、未受精卵から成体組織まで、存在していることが分かった。初期発生では発生段階により、成体では組織の種類により、その発現レベルには差があるようであった。次の段階として、定量的な変化について調べる必要がある。ヒトの *mago* 相同遺伝子 (*MAGOH*) は、細胞増殖との関わりが明らかにされており⁷⁾、細胞分裂の活性が高い組織や細胞増殖期の発生段階では高い発現レベルが予想される。

ショウジョウバエでは生殖細胞決定に必要な *oskar* mRNA の局在に関わり⁴⁾、線虫では生殖細胞系列の性決定過程を調節する⁸⁾ *mago* だが、その分子的な機構は未だに分かっていない。ハエに致死突然変異系統があることから、*mago* が生存に必要な機能をも持つことが示されている。*MAGOH* は RNA 結合蛋白質と相互作用があることが最近報告された⁹⁾。この RNA 結合蛋白質は特異的な発現様式を示すものではないので、ハエで見られるような組織や発生段階特異的な機能を果たすにはさらに別な因子が関わっているのであろう。ハエの生殖細胞欠失変異系統では微小管ネットワークの再構成異常が見られ⁶⁾、また、アミノ酸配列から微小管結合蛋白質と共通の部分が見いだされることから考えると、*mago* は微小管系とかかわってその機能を果たしているのかもしれない。実際に *Mago* とチューブリンの相互作用の解析を試みたが、今回は明確な結果は得られなかった。今後の課題である。

Mago とチューブリンの相互作用解析実験は、東京都立大学において同大学理学研究科生理学研究室の久永真市教授のご指導の下、行いました。この場を借りて、厚く御礼申し上げます。

引用文献：

- 1) Gardner RL. The early blastocyst is bilaterally symmetrical and its axis of symmetry is aligned with the animal-vegetal axis of the zygote in the mouse. *Development* 124: 289-301. 1997.
- 2) Ko MS et al. Large-scale cDNA analysis reveals phased gene expression patterns during preimplantation mouse development. *Development* 127: 1737-1749. 2000.
- 3) Boswell RE et al. Mutations in a newly identified *Drosophila melanogaster* gene, *mago nashi*, disrupt germ cell formation and result in the formation of mirror-images symmetrical double abdomen embryos. *Development* 113: 373-84. 1991
- 4) Newmark PA and Boswell RE. The *mago nashi* locus encodes an essential product required for germ plasm assembly in *Drosophila*. *Development* 120: 1303-13. 1994
- 5) Newmark PA et al. *mago nashi* mediates the posterior follicle cell-to-oocyte signal to organize axis formation in *Drosophila*. *Development* 124: 3197-207. 1997.
- 6) Micklem DR et al. The *mago nashi* gene is required for the polarisation of the oocyte and the formation of perpendicular axes in *Drosophila*. *Curr Biol*. 7: 468-78. 1997.
- 7) Zhao XF et al. The mammalian homologue of *mago nashi* encodes a serum-inducible protein. *Genomics* 47: 319-22. 1998.
- 8) Li W, Boswell R, Wood WB. *mag-1*, a homolog of *Drosophila mago nashi*, regulates hermaphrodite germ-line sex determination in *Caenorhabditis elegans*. *Dev Biol* 218: 172-82. 2000.
- 9) Zhao XF et al. *MAGOH* interacts with a novel RNA-binding protein. *Genomics* 63:145-8. 2000.