

## ショウジョウバエ極細胞質内 mtrRNA の由来

岡田 益吉・小林 悟・網蔵 令子・北村 富一郎・遠藤 啓太・斉藤 浩光

Masukichi OKADA, Satoru KOBAYASHI, Reiko AMIKURA, Tomiichiro KITAMURA, Keita ENDO and Hiromitsu SAITO: Locations in *Drosophila* egg chambers and embryos where mtrRNA is transported out of mitochondria\*

Institute of Biological Sciences, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305, Japan

ショウジョウバエの生殖細胞決定因子は、古くから卵後極の細胞質である極細胞質に局在していると考えられてきた。しかし、われわれの研究により生殖細胞決定因子は決して単一の因子ではなく、最低3種類の因子の働きが考えられることが明らかに示唆された (Togashi *et al.*, 1986)。その中の一つである極細胞形成因子はミトコンドリアゲノムにコードされているリボソーム大型サブユニット RNA (mtrRNA) であることを明らかにし (Kobayashi and Okada, 1989)、さらに mtrRNA はミトコンドリア外に搬出された後、極細胞質特異的に存在する細胞内小器官である極顆粒に局在することを示した (Kobayashi *et al.*, 1993)。

MtrRNA が正常発生過程でいかに機能して極細胞形成をもたらすのか、その分子機構を明らかにするのがわれわれの研究のゴールであるが、それ以外にも、明らかにしなければならない様々な重要な問題がある。その中の一つである、mtrRNA はいかにしてミトコンドリア外に運ばれるのかについては、まだ分子レベルでは全く不明であるが、最近の観察によって従来われわれが考えていたような単純なモデルでは説明できない事実が生じてきた。今回は主としてこの問題を取り上げて報告する。

### 1) 従来モデル、およびそれを支持する観察結果

MtrRNA が極顆粒にのみ局在することが判明し、最初に提出したモデルは Mahowald の細胞化学的方法による観察 (1971) に基づいている。卵形成の終わりから受精直後までの間、極細胞質内でミトコンドリアと極顆粒とが接着している。そして、極顆粒は蛋白質と RNA とを含むが、このうち RNA は、極顆粒がミトコンドリアから離れると減少を開始し、極細胞形成時以後極顆粒には蛋白質のみが検出される。われわれはこの RNA が mtrRNA であり、極顆粒とミトコンドリアが接着している間に、接着部を通してミトコンドリアから極顆粒に移行するのであろう、と考えたのである。

このモデルを支持するよう見える観察結果が存在する。電子顕微鏡レベルの *in situ* ハイブリダイゼーションで、ミトコンドリアと極顆粒とが接していると、その接着部分に mtrRNA の存在を示すシグナルが認められる。ミトコンドリアから離れた極顆粒では mtrRNA のシグナルは極顆粒全体ではなく、表面の一部に限られている。この観察結果は、上述のモデルでのみうまく説明できる。しかし、mtrRNA が輸送される時期については、卵形成の最後のステージが主であると考えていたが、実際は受精後かなりの期間、すなわち数回の核分裂が起こる間まで行われていることが明らかになった。

### 2) MtrRNA のミトコンドリアからの搬出が起こる遺伝学的条件

MtrRNA のミトコンドリア外への移送が行われるためには、腹部形成に関わる遺伝子群 (posterior group genes) のうち、*nanos* および *pumilio* を除く全ての遺伝子が正常に働くことが必要である (Ding *et al.*, 1994)。一方、posterior group 遺伝子は、極細胞質の構成分子を極細胞質に集めるために働くもの、極細胞質をオーガナイズして腹部形成因子、極細胞形成因子 (mtrRNA) の働きを可能にするもの、そして形成因子自体、の3群に分けられる。このうち第2番目のグループの中でキーとなる働きをする遺伝子が *oskar* である。*oskar* mRNA の 3' UTR を *bicoid* mRNA のものと交換することにより、*oskar* mRNA を卵の前極に局在させることができる。このような胚では、前極にも極細胞が形成される (Ephrussi and Lehmann, 1992)。

このような胚の前極で、電子顕微鏡レベルの *in situ* ハイブリダイゼーションを行い、前極にも極顆粒が存在し、

\* Abstract of paper read at the 30th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, June 3-4, 1994 (Sugadaira, Nagano).

その極顆粒に *mtlrRNA* が局在していることを明らかに示すことができた。この実験結果は、*oskar* 遺伝子が腹部形成因子 (*nanos* 遺伝子の産物) と共に、*mtlrRNA* をミトコンドリアから搬出するために必要な遺伝子産物群を後極に配置して働かせるために必要な働きを示している。さらに *oskar* の下位で働く *tudor* 遺伝子にコードされている蛋白質がミトコンドリア内に存在する (Bardsley *et al.*, 1993) ことから、*mtlrRNA* をミトコンドリアから運び出すのに *tudor* 蛋白質が何らかの役割を担っていると考えているが、まだ確証はない。

### 3) 卵巣内に於けるミトコンドリア外 *mtlrRNA* の分布

卵形成初期、中期の卵室に対して *in situ* ハイブリダイゼーション (光学顕微鏡レベル) を行ったところ、初期から中期にかけて哺育細胞の核周辺に存在するいわゆるヌアージに *mtlrRNA* の存在を示す顕著なシグナルが認められた。卵形成中期においてはさらに卵細胞全域にわたってシグナルが検出された。そして、成熟卵形成後はシグナルは後極に局在するがあまり強くなく、産卵後このシグナルが増強されることが明らかになった。

この結果は、全くわれわれの予測に反しており、上述のモデルでは全く説明が不可能である。上述の観察結果から、卵形成後期から産卵後にかけて、ミトコンドリアから極顆粒に *mtlrRNA* が移送されるという現象が起こることは間違いないと思われる。しかし、実際はこれ以外に、哺育細胞のヌアージにおいて (ここには極顆粒は存在しないが、いくつかの *posterior group* 遺伝子産物は存在する) *mtlrRNA* の搬出が行われることもまた事実であろう。今後の検討が待たれる。

### 4) 極細胞において発現する遺伝子

表題と直接関係はないが、生殖細胞形成過程で起こる重要な現象として、われわれのグループの研究の一環であるので、以下に簡単に述べる。

- a) P 因子第 3 イントロンのスプライシング機構により mRNA がスプライスされる遺伝子として、スプライシングの特異性を決める 20bp の塩基配列を目安にして、極細胞特異的に発現する遺伝子をクローニングした。現在極細胞特異的に発現する遺伝子として、最も有力な候補を発見、解析中である。
- b) *Spermatidless* 遺伝子。精子形成過程で、*spermatogonia* が減数分裂を行い *spermatid* となるために働きが必要な遺伝子を、P 因子挿入突然変異法によりクローニングした。現在解析が進んでいる。

### 引用文献

- Bardsley, A., K. McDonald and E. Boswell (1993) *Development*, **119**, 207-219.  
 Ding, D., K. L. Whittaker and H. D. Lipshits (1994) *Dev. Biol.*, **163**, 503-515.  
 Ephrussi, A. and R. Lehmann (1992) *Nature*, **358**, 387-392.  
 Kobayashi, S and M. Okada (1989) *Development*, **107**, 733-742.  
 Kobayashi, S., R. Amikura and M. Okada (1993) *Science*, **260**, 1521-1524.  
 Mahowald, A. P. (1971) *J. Exp. Zool.*, **176**, 345-352.  
 Togashi, S., S. Kobayashi and M. Okada (1986) *Dev. Biol.*, **118**, 352-360.