

キイロシヨウジヨウバエの始原生殖細胞（極細胞）の 細胞培養化の試み

三浦 朋子・仁木 雄三

Tomoko MIURA and Yuzo NIKI: *In Vitro* Culture of Primordial Germ Cell (Pole Cell) of *Drosophila melanogaster**

Department of Material and Biological Sciences, Faculty of Science, Ibaraki University, Mito, Ibaraki 310–8512, Japan
E-mail: tomoko-m@wa3.so-net.ne.jp (TM)

キイロシヨウジヨウバエの始原生殖細胞（極細胞）は、多核性胚盤葉期に形成され、細胞性胚盤葉期までに0–2回の分裂をし、平均35個となる。それ以降孵化するまで、極細胞は分裂しない（Campos-Ortega and Hartenstein, 1985）。Allisら（1977, 1979）は極細胞を *in vitro* で培養したが、分裂の誘導や長期的な培養は成功していない。

今回、われわれは、極細胞が *in vitro* で培養できるかどうか様々な条件下で検討した。まず、強制的に Dpp や Wg を発現させることのできる S2 細胞株を利用し、強制発現後の培養上清を conditioned medium として培養培地に加えた。しかし、いずれの場合も極細胞は短期間で死滅し、また増殖率も低かった。

そこで、ORE-R 初期胚の細胞を初代培養し、その培養上清を培地に加え、極細胞を培養した。その結果、S2 細胞由来の Dpp、Wg を加えた場合よりも、高い増殖率が誘導された。特に、培養期間が10日から2週間の初代培養細胞由来の上清が最も効果的であった。この時期の初代培養細胞では、盛んに細胞分裂がおこっており、上清中に多量の成長因子が含まれているためと考えられる。しかし、トリパンブルー染色により細胞死の割合を調べると、培養3日目以降多くの細胞が死んでいることが分かった。培地交換を頻繁に行うなど培養条件を変えても細胞死は防げなかった。このことは、極細胞の増殖を促進する因子と維持するために必要な因子は異なったものである可能性を示唆している。

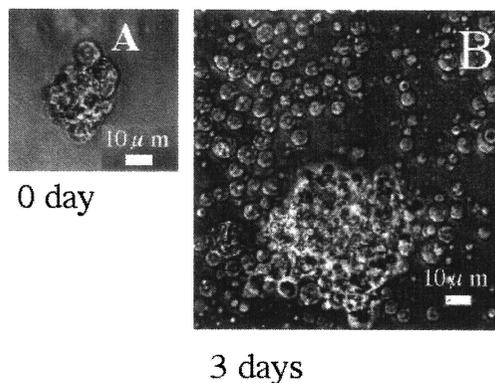


Fig. 1 Pole cells in culture. Pole cells are sucked in a glass needle of diameter of 12 μ m and placed in the medium that contains conditioned medium from primary culture cells of Oregon-R embryos.

* Abstract of paper read at the 38th Annual Meeting of Arthropodan Embryological Society of Japan, July 5–6, 2002 (Sugadaira, Nagano).

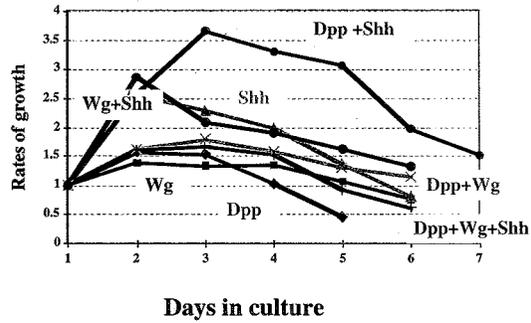


Fig. 2 Effect of growth factors on the growth of pole cells in culture.

次に、Gal4/UAS 発現システムを用いて Act-gal4/UAS-Dpp、Act-gal4/UAS-Wg、Act-gal4/UAS-shh 系統を作成し、その胚の初代培養上清を用いて Dpp、Wg および Shh の効果を調べた。その結果、Shh と Dpp の両方を培地に加えたときに最も高い増殖がみられた。しかし、これらの培地でも培養 3 日目以降に細胞死が起こり、長期の培養はできなかった。今後は、極細胞をより長期的に培養できる条件を検討していきたい。

引用文献

- Allis, C.D., G.L. Waring and A.P. Mahowald (1977) *Dev. Biol.*, **56**, 372-381.
 Allis, C.D., E.M. Underwood, J.H. Caulton and A.P. Mahowald (1979) *Dev. Biol.*, **69**, 451-465.
 Campos-Ortega, J.A. and V. Hartenstein (1985) *The Embryonic Development of Drosophila melanogaster*. Springer-Verlag, Berlin.