
ウズラ生殖腺の卵巣分化における W 性染色体遺伝子の機能解析

北海道大学大学院理学研究院生物科学部門・助教 水島 秀成

■ 目的

鳥類生殖腺の性決定・分化成立に関する仕組みは長年にわたる生物学の謎として現在もなお残されている。鳥類の性決定遺伝子は Z 染色体上にあり、遺伝子発現量がオス 2 (ZZ) に対してメス 1 (ZW) となることが、精巣または卵巣分化の引き金となるという考え方が古くから存在し、それに関わる Z 染色体上遺伝子として、*DMRT1* がニワトリで同定されている。しかしながら、*DMRT1* による精巣分化の分子経路とは別に、卵巣分化には W 性染色体上の遺伝子の関与が示唆されている。近年のゲノム・RNA シーケンス技術の普及により、W 性染色体上に存在する遺伝子のマッピングが推進され、その内の一つとして *WPKCI* 遺伝子が単離されている。本研究では、ウズラ胚を材料に *WPKCI* 遺伝子の卵巣分化に及ぼす機能を解明する事を目的とした。

■ 方法

ニワトリでは Z 性染色体に *ZPKCI* も存在し、メスの生殖腺において *WPKCI/ZPKCI* mRNA の発現が認められているが、ウズラにおいてその存在は確認されていない。そこでまず始めに cDNA 及びゲノム DNA を材料に *WPKCI/ZPKCI* 遺伝構造を明らかにした。推定されるアミノ酸配列から *WPKCI/ZPKCI* のそれぞれに特異なペプチド抗体を作製し、タンパク質発現・局在解析を実施した。また *WPKCI/ZPKCI* リコンビナントタンパク質を作製し、それぞれと相互作用するタンパク質の同定・発現解析を試みた。

■ 結果および考察

WPKCI と *ZPKCI* のアミノ酸配列を比較すると、全体の相同性が 44% に留まっていた。*ZPKCI* に存在しないロイシン・アルギニンに富む *WPKCI* の N 末端領域が存在することや *PKCI* の触媒ドメインが欠損していることから、*WPKCI* は *ZPKCI* とは独立した機能を有していると予想された。また *WPKCI/ZPKCI* mRNA は孵卵 6 日以前から発現しており、それらのタンパク質はメス生殖腺の上皮細胞を中心に発現することがわかった。またファーウェスタンブロット及び質量分析の解析結果から、*WPKCI* は、*ZPKCI* だけでなく、 β カテニン関連分子群との結合能を有することが判明した。さらに *WPKCI* は転写コアロベーターとの結合能も示したことから、遺伝子転写の調整に関与していることが示唆された。 β カテニンは Wnt シグナルカスケードの一員であることが知られており、これらのことから *WPKCI* は少なくとも *ZPKCI* と含めた多量体を形成することで Wnt シグナル標的遺伝子の転写に寄与していることが推察された。

■ 結語

WPKCI は Wnt シグナル標的遺伝子の転写調節に関与していることがわかってきた。CRISPR/Cas9 システムによるゲノム編集ウズラ胚を用いた更なる証明に期待がかかる。本研究において得られた *WPKCI* 欠損ゲノム編集ウズラは、*WPKCI* の偏在的な発現様式から胚性致死となった。そのため、更なるゲノム編集ウズラを用いた *WPKCI* の機能解析の実施には、sgRNA 設計の工夫が必要である。