

ショウジョウバエ始原生殖細胞における母性
ovo の機能解析

篠塚 裕子

博士（理学）

総合研究大学院大学
生命科学研究科
基礎生物学専攻

平成28（2016）年度

ショウジョウバエ始原生殖細胞における母性 *ovo* の機能解析

(Functional analysis of maternal *ovo* in primordial germ cells of *Drosophila melanogaster*)

篠塚裕子

目次

I	概要.....	1
II	序論.....	5
III	材料および方法.....	9
IV	結果.....	21
V	考察.....	33
VI	謝辞.....	44
VII	参考文献.....	45
VIII	図表.....	48

I 概要

生殖細胞は、次世代に遺伝情報を伝える唯一の細胞である。ショウジョウバエの生殖細胞は、初期胚に形成される始原生殖細胞に由来する。始原生殖細胞は、胚の後端に位置する極細胞質を取り込むように形成されることが知られている。極細胞質中には生殖細胞の発生に必要な十分な母性因子が含まれており、その一部は生殖系列特異的な遺伝子の発現を活性化させる機能を持つと考えられてきた。当研究室ではその候補遺伝子を同定するためにスクリーニングを行い、極細胞質に偏在する母性因子のうち生殖系列特異的な遺伝子である *vasa* と *nanos* の転写活性化に必要な転写制御因子として6種類の母性因子を同定した。これらのうちの一つである *ovo* mRNA は、*ovo* 遺伝子から転写される。*ovo* 遺伝子は、卵形成過程で働く転写促進タンパク質 *Ovo-B* と転写抑制タンパク質 *Ovo-A*、さらに表皮の形態形成に関与する転写活性化タンパク質 *Svb* という3種類のアイソフォームをコードしており、それらは特異的な DNA 配列に結合することが報告されている。これまでに、RT-qPCR (Reverse Transcription – quantitative Polymerase Chain Reaction) により始原生殖細胞においては *ovo-B* mRNA が優占的に発現しており、*ovo-A* mRNA の発現はその 1/100 程度であること、母性および胚性の *Ovo-B* タンパク質の機能を阻害した場合にはオスとメスともに生殖細胞を含まない生殖巣になることが示されていた。しかし、①始原生殖細胞における母性 *Ovo* タンパク質の発現、②母性 *Ovo-B* を機能阻害した場合の表現型、③始原生殖細胞において母性 *Ovo-B* が発現を制御する下流遺伝子、はいずれも明らかにされていなかった。本研究では、これらの点を解

析することにより、始原生殖細胞における母性 **Ovo** の機能を明らかにすることを試みた。

第一に、始原生殖細胞における **Ovo** タンパク質の発現を明らかにするため、*ovo* のゲノム領域に **EGFP** (enhanced GFP) をノックインした系統を用いて観察をおこなった。**Ovo-A**, **Ovo-B**, **Svb** の全てが **EGFP** との融合タンパク質となる *ovoB-Nterm-EGFP* 系統では、形成された直後から胚発生期間を通じて始原生殖細胞の核に **Ovo-EGFP** シグナルが発現していた。一方、**Ovo-A** のみが **EGFP** との融合タンパク質となる *ovoA-Nterm-EGFP* 系統では **Ovo-EGFP** シグナルがほとんど検出されなかった。以上のことと、*svb* mRNA が始原生殖細胞では検出されないことを考え合わせると、始原生殖細胞では **Ovo-B** タンパク質が優占的に発現していると結論付けられる。また、母性および胚性 **Ovo** タンパク質の発現時期を調べたところ、胚発生期の始原生殖細胞では胚性の **Ovo-EGFP** の発現はわずかであり、母性に供給される **Ovo-B** が優占的に発現していることが明らかになった。

第二に、**Ovo-B** と拮抗的に働く転写抑制因子 **Ovo-A** の過剰発現により、母性 **Ovo-B** タンパク質の機能阻害をおこなった。その結果、メスでは一令幼虫から生殖系列の細胞数が減少し、多くの成虫は生殖細胞を欠き不妊となった。一方、オスでは一令幼虫期に一時的に生殖系列の細胞数が有意に減少したが、その後回復して妊性をもつ成虫となった。一部のメスが妊性をもつこと、オスの成虫では不妊が見られなかったことは、先行研究と比較して **Ovo-B** の機能阻害効果が弱いことが原因と考えられる。しかしながら、母性 **Ovo-B** の機能阻害によりメスにおいて不妊の表現型が観察されたこと、胚性 **Ovo** の機能を必要としない

オスでも一時的に生殖系列の細胞が減少したことは、母性 **Ovo** の機能がオスとメスの生殖細胞の発生に必要であることを強く示唆している。

最後に、始原生殖細胞において母性 **Ovo-B** により制御される遺伝子を同定するため、母性 **Ovo-B** 機能阻害胚および正常胚から始原生殖細胞をセルソーターで単離し、両者のトランスクリプトームをマイクロアレイ解析により比較するとともに、GO (Gene Ontology) 解析をおこなった。母性 **Ovo-B** の機能阻害により発現が増加した遺伝子群には、中胚葉性組織の発生、筋組織の発生、脚の形態形成など体細胞の発生に関わる遺伝子が有意に多く含まれていた。一方、発現が減少した遺伝子群には *piwi* を含むトランスポゾンの転移抑制に関わる遺伝子が多く含まれる傾向があった。母性 **Ovo-B** の機能阻害により発現が有意に減少していたトランスポゾンの転移抑制に関わる遺伝子 *piwi*, *aubergine (aub)*, *tejas (tej)* は生殖系列で高発現することが報告されている。

上記の結果は、母性 **Ovo-B** が、始原生殖細胞中において、生殖系列に高発現する遺伝子の発現を促進し、逆に体細胞の発生に関わる遺伝子の発現を抑制している可能性を示唆している。始原生殖細胞における遺伝子発現と胚全体における遺伝子発現を網羅的に解析したデータを利用し、この可能性を検証したところ、胚全体に比べて始原生殖細胞で発現が高い遺伝子の多くは母性 **Ovo-B** によって転写が促進され、逆に胚全体で発現が高い遺伝子の多くは転写が抑制されることが明らかとなった。このことは、母性 **Ovo-B** が始原生殖細胞の発生に必要な遺伝子の発現を促進し、体細胞の発生に必要な遺伝子の発現を抑制していることを示している。実際に、母性 **Ovo-B** により発現が促進される 16 遺伝子の機能を生殖系列において阻害したところ、5 つの遺伝子では影響が見られな

かったものの、4つの遺伝子で成虫がオスとメスともに不妊となり、7つの遺伝子でメスの成虫が不妊となった。これらの結果は、母性 **Ovo-B** が生殖細胞に必要な遺伝子の転写制御に関わっていることを示している。

本研究により母性 **Ovo-B** の下流遺伝子として *piwi* が新たに同定されたことにより、以前の研究結果と合わせて考えると、生殖系列特異的遺伝子である *piwi*, *vasa*, *nanos* が母性 **Ovo-B** により制御されていることが明らかになった。これら3つの遺伝子は進化的に広く生殖系列特異的に発現していることから、生殖系列における *ovo* 遺伝子の機能も他の動物で保存されている可能性が考えられる。実際に、マウスの *ovo* オルソログである *Ovol2* の機能を欠くと、胚発生期に始原生殖細胞数が減少することが明らかにされている。これらの結果は、生殖系列の発生過程における *ovo* の機能が進化的に保存されている可能性を強く示唆している。

II 序論

生殖細胞は、次世代に遺伝情報を伝える唯一の細胞である。このような特殊な能力を有する細胞を生み出す細胞系譜を生殖系列と呼ぶ。動物の生殖系列の形成様式は、卵の中に生殖系列の決定に関わる分子が母性因子として存在する「前成的 (preformation) 様式」と、分泌性シグナルの働きにより胚発生過程において多能性細胞から生殖系列が誘導される「後成的 (epigenesis) 様式」に分けられる (Extavour and Akam, 2003)。しかし、形成様式の違いにもかかわらず、両者に共通する特徴も知られている (Juliano et al., 2010)。その代表例として、進化的に保存された *vasa*、*nanos*、*piwi* の3つの遺伝子が多くの動物の生殖系列に発現することが挙げられる。この事実から、これら生殖系列特異的な遺伝子を活性化する機構は進化的に保存されていると考えられてきた。

「前成的様式」を代表するショウジョウバエでは、胚の後端に極細胞質と呼ばれる特殊な卵細胞質が局在しており、これを取り込んだ細胞が生殖系列となる (本稿では、胚発生期の生殖系列を始原生殖細胞と呼ぶ) (図 1)。極細胞質を胚の前端部に移植すると、そこに形成される細胞の体細胞分化が抑制され、その細胞は機能的な生殖細胞にまで分化できる始原生殖細胞になることが知られている (Illmensee and Mahowald, 1974)。このことは、極細胞質には異なる機能を果たす2種類の母性因子が含まれることを示唆している。その一つは、体細胞の分化を抑制する母性因子であり、もう一つは、生殖細胞の発生、すなわち始原生殖細胞の形成および分化を促進する母性因子である。これまでに、前者の因子をコードする遺伝子として、*nanos* および *polar granule component*

(*pgc*) が同定されている (Hayashi et al., 2004; Hanyu-Nakamura et al., 2009)。しかし、後者の母性因子に関しては、生殖系列特異的遺伝子発現を活性化することにより始原生殖細胞の形成および分化を促進すると考えられてきたが、そのような機能を持つ母性因子は明らかになっていなかった。

そこで、生殖系列特異的な遺伝子の発現を活性化させる母性因子を同定するため、当研究室で極細胞質に偏在する母性因子の網羅的スクリーニングがおこなわれた。母性因子の多くは mRNA として胚に蓄積していることから、形成された直後の始原生殖細胞を単離し、胚全体と比較して高発現する母性 RNA をマイクロアレイ解析により同定した。このうち転写制御因子をコードする 68 種類の RNA について *in situ hybridization* によって発現解析を行い、極細胞質に偏在する 27 種類の RNA を同定した。これら 27 種類の RNA に対する dsRNA を初期胚にインジェクションして機能阻害をおこなったところ、6 種類の RNA に対する機能阻害胚において、生殖系列特異的遺伝子である *vasa* と *nanos* mRNA の始原生殖細胞における転写（胚性発現）が低下することが明らかになった (Yatsu et al., 2008)。同定された 6 種類の RNA のうち、特異的な DNA 配列に結合して下流遺伝子の転写を制御する転写因子をコードすることが報告されているのは *ovo* のみであった (Mével-Ninio et al., 1991)。

ovo 遺伝子は、スプライシングバリエントである *ovo-A*、*ovo-B*、*svb* mRNA をコードし、それぞれの mRNA から DNA 結合性 Zn フィンガー・モチーフを共通してもつ Ovo-A、Ovo-B、Svb タンパク質が産生される (図 2) (Mével-Ninio et al., 1995)。先行研究でおこなわれた *in situ hybridization* と RT-qPCR により、始原生殖細胞において発現しているのは *ovo-B* と *ovo-A* mRNA であり、*ovo-A*

mRNA の発現量は *ovo-B* mRNA の約 1/100 程度であることが報告されている (林誠, 2008)。したがって、始原生殖細胞においては **Ovo-B** が優占的に発現していると考えられる。しかし、始原生殖細胞における **Ovo** タンパク質の発現はこれまで調べられていなかった。転写因子である **Ovo** タンパク質は DNA に結合して下流遺伝子の転写を制御するため、発生過程において **Ovo** タンパク質が機能する時期を特定するためには核内に分布する時期を明らかにする必要がある。

始原生殖細胞において *ovo-B* が優占的に発現していることを示した先行研究の結果は (林誠, 2008) 、**Ovo-B** タンパク質が始原生殖細胞において機能を持つことを示唆している。母性 *ovo* の機能を調べるためには *ovo* 変異体のメスから得られる胚における表現型を調べる必要があるが、*ovo* は卵形成に必須な機能を持つために *ovo* 変異体のメスは不妊である (Mével-Ninio et al., 1991; Oliver et al., 1987)。そこで、**Ovo-B** と共通の DNA 結合配列を持ち、転写促進因子である **Ovo-B** と拮抗して働くことが報告されている転写抑制因子 **Ovo-A** (Andrews et al., 2000) を生殖系列の細胞に過剰発現することにより **Ovo-B** の機能を阻害する方法を用いて表現型の解析がおこなわれた。この方法によって生殖系列において母性および胚性の **Ovo-B** の機能を阻害したところ、オス・メス共に生殖細胞を欠く不妊の成虫となったことから、**Ovo-B** は生殖系列の発生過程において必須の機能を持つことが示された (林誠, 2008)。しかし、母性および胚性 **Ovo-B** の機能を阻害したこの先行研究では、母性 **Ovo-B** が生殖細胞の発生に重要な働きをしているのかについては不明であった。

母性 **Ovo-B** は転写活性化因子であることから (Mével-Ninio et al., 1991)、生殖系列における転写制御を介して生殖細胞の発生を促進する働きをもつと考え

られる。これまで、進化的に保存された生殖系列特異的遺伝子である *vasa*、*nanos*、*piwi* のうち (Juliano et al., 2010)、*vasa* と *nanos* は母性 *Ovo* により発現が制御されることが示されていた (Yatsu et al., 2008)。しかし、始原生殖細胞において、母性 *Ovo* が *piwi* やそれ以外の生殖細胞の発生に必要な遺伝子の発現を制御するかは不明であった。

本研究では、これまで不明であった以上3点、すなわち、始原生殖細胞における *Ovo* タンパク質の発現、母性 *Ovo-B* を機能阻害した場合の表現型、始原生殖細胞において母性 *Ovo-B* に制御される遺伝子とその機能を解析し、生殖系列における母性 *Ovo* の機能を明らかにすることを目的とする。

Ⅲ 材料および方法

すべてのハエの系統は、コーンミール・寒天培地（蒸留水 1 l に寒天 5.4 g, エビオス 70 g, グルコース 100 g を加えて沸騰させた後、プロピオン酸 3 ml, ボーキニン 7 ml を加えたもの）を飼育瓶（直径 3 cm, 深さ 10 cm, プラスチック製）に 10 ml ずつ分注したものをを用いて、25 °C の恒温室で飼育した。採卵にはグレープジュースプレート（蒸留水 50 ml に寒天 2 g を加えて加熱した後、ウェルチグレープジュース 50 ml, エタノール 1 ml, 酢酸 1 ml を加えて固めたもの）を用いた。

1. EGFP knock-in 系統による Ovo タンパク質の発現解析

EGFP knock-in 系統の作成は Kondo and Ueda (2013) に基づいて CRISPR/Cas9 法を用いて以下のようにおこなった。EGFP knock-in 系統の作成に使用した系統は表 1 に示した。

1-1. gRNA 系統の作成

Ovo-A および Ovo-B タンパク質の N 末端側に EGFP を挿入するため、それぞれの開始メチオニン付近上流 10 bp から下流 50 bp までの配列を用いて CRISPR 標的配列（sgRNA 配列）の候補を選定した。選定には CRISPR Optimal Target Finder を用いた (Gratz et al., 2014)。

決定した標的配列は、gRNA 発現ベクター pBFv-U6.2 に挿入するための制限酵素 *Bbs* I 切断後の突出末端と相補的な CTTC および AAAC を付加した 24 塩

基のオリゴマーとして合成した (表 2) (ユーロフィンジェノミクス社)。合成したオリゴマー同士をアニーリングさせるため、各オリゴマー10 μ M を 1 x 制限酵素 M buffer (タカラバイオ社) 中で 95 $^{\circ}$ C, 5 分間処理したのち、25 $^{\circ}$ C まで約 2 時間かけて徐冷した (ramp rate 1%) (Veriti サーマルサイクラー、アプライドバイオシステムズ社)。アニーリングしたオリゴマーは DNA Ligation Kit (タカラバイオ社) を使用し、制限酵素 *Bbs* I (NEB 社) で切断した pBFv-U6.2 に挿入した (図 3)。

標的配列を pBFv-U6.2 に挿入したプラスミド pBFv-U6.2-ovoA, および pBFv-U6.2-ovoB はシーケンサーを用いて塩基配列を確認したのち、HiSpeed Plasmid Purification Midi Kit (キアゲン社) を用いて精製したものを TBX0002 または TBX0003 系統の初期胚に終濃度 1 μ g / μ l でインジェクションした (詳細は後述)。TBX0002 および TBX0003 はそれぞれ第二染色体上、第三染色体上に attP 配列が挿入された系統で、インジェクションされた pBFv-U6.2-ovoA および pBFv-U6.2-ovoB は attB 配列をもつため (図 3)、X 染色体に挿入されている phiC31 インテグラーゼの働きによって高い頻度で attP 配列の場所に挿入される。また、宿主系統である TBX0002 および TBX0003 は *vermillion* (*v*) 突然変異を有しているため成虫の眼色がバーミリオン色になるが、pBFv-U6.2-ovoA および pBFv-U6.2-ovoB には正常な *v* 遺伝子が含まれるため、これらのベクターが染色体上に挿入された個体は成虫の眼色は *v*⁺、すなわち正常眼色となる。インジェクションした個体 (P0) から交配によって *v*⁺となる次世代 (F1) を選別し、さらに *phiC31* インテグラーゼ遺伝子が挿入された X 染色体を除いて ovoA gRNA 系統および ovoB gRNA 系統を樹立

した。

1-2. EGFP ノックイン系統の作成

CRISPR/Cas9 を利用したノックインは DNA 相同組み換えによる DNA 修復機構を利用するため、挿入される EGFP 配列をゲノム上の挿入部位の両側の配列で挟んだノックインコンストラクトが必要である。そのため、Ovo-A, Ovo-B の開始メチオニンコドンから上流および下流 1 kb のゲノム領域をそれぞれ PCR で増幅した。このとき、EGFP がノックインされた後に再び gRNA / Cas9 によって標的配列が切断されないようにするため、標的配列の塩基配列をアミノ酸配列が変わらないように置換した (図 4)。また、EGFP は pEGFP-N1 をテンプレートとして、鎖状の pBlueScript II SK+は環状 pBlueSkript II SK+をテンプレートとして PCR で増幅した。増幅に使用したそれぞれのプライマーを表 3 に示す。ゲノム切断点の両側の配列、EGFP、鎖状ベクターの 4 つの断片を電気泳動ののち QIAquick gel Extraction Kit (キアゲン社) を用いて精製し、In-FusionHD Cloning Kit (タカラバイオ社) または Gibson Assembly Master Mix (NEB 社) を用いてライゲーションさせ、ノックインコンストラクト pB-EGFP-ovoA, pB-EGFP-ovoB を作成した。

ノックインコンストラクト pB-EGFP-ovoA, pB-EGFP-ovoB は塩基配列を確認したのち、HiSpeed Plasmid Purification Midi Kit (キアゲン社) を用いて精製したものを終濃度 150 ng / ul でインジェクションに使用した。インジェクションには生殖系列で Cas9 を発現する CAS0004 のメスに ovoA gRNA 系統ホモ接合オスまたは ovoB gRNA 系統ホモ接合オスを交配して得られた初期胚を用

いた。ノックインの効率が低いことが予想されたため、以下のように、挿入された EGFP を有する個体のチェックを 2 段階でおこない系統化した。まず、インジェクションにより得られた成虫 (P0) をメス 1~3 匹、オス 1~3 匹を交配させ、飼育瓶中に成育した次世代 (F1) の幼虫約 10 匹からゲノムを抽出した。このゲノムをテンプレートに PCR をおこない、EGFP を有する F1 個体が含まれていた飼育瓶を絞り込んだ。このとき、EGFP を有する F1 個体が含まれていた飼育瓶の割合は、pB-EGFP-ovoA をインジェクションしたもののうち 50% (飼育瓶の数は 4 本)、 pB-EGFP-ovoB をインジェクションしたもののうち 100% (飼育瓶の数は 5 本) であった。この F1 集団には、EGFP を有する個体と有さない個体が混在している。そこで、F1 成虫 1 匹とバランサー系統数匹を交配し系統化した。さらに *nos-Cas9* を有する第二染色体 (CyO^+) および gRNA 発現ベクターが挿入された第二または第三染色体 (v^+) を除いた。系統化に使用した F1 成虫のゲノムを用いてもう一度 PCR をおこない、EGFP を有している系統を *ovoA-Nterm-EGFP* 系統、*ovoB-Nterm-EGFP* 系統とした (data not shown)。

1-3. マイクロインジェクション

マイクロインジェクションの器具および操作については、小林 (1990a-c) の方法に従った。産卵後 0~30 分の胚を回収し、蒸留水で洗浄し、次亜塩素酸ナトリウムで卵殻を除去した後、スライドガラスに貼った両面テープの上に並べた。これらの胚をシリカゲルの入ったデシケーターの中で 3 分間乾燥させ、シリコンオイル [FL-100, 450 cs、信越シリコーン(株)社] で胚を覆い、内径 3~5 μm

のガラス針を用いて胚あたり 0.1 nl マイクロインジェクションした。その後、25 °Cの保湿箱中で発生させ、孵化した幼虫を得た。幼虫はコーンミール・寒天培地上で成虫まで発生させた。

1-4. Ovo-EGFP の免疫染色

成虫卵巣は、羽化後 2-3 日目の成虫を PBS (137mM NaCl, 2.7mM KCl, 10mM Na₂HPO₄, 1.8mM KH₂PO₄) 中でピンセットを用いて解剖することにより単離した。単離した卵巣は 2 ml の固定液 (4%パラホルムアルデヒドを含む PBS) 中で、室温で 15 分間固定した。

胚は産卵させたグレープジュースプレートからピンセットで回収し、蒸留水で洗浄し、次亜塩素酸ナトリウム溶液で脱殻した。固定は固定液 1 ml とヘプタン 1 ml を混合した中で、30 分間ローテーターで攪拌しながらおこなった。その後、固定液を除き、1 ml のメタノールを加えて激しく攪拌することで卵黄膜を除去した。卵黄膜を除去した胚はメタノール中において-20 °Cで保存した。

上記の方法に従って固定した胚と卵巣は PBST (0.2% Tween20 を含む PBS) で 3 回洗浄した後、さらに 10 分間ずつ 3 回洗浄した。その後、ブロッキング溶液 (2% ウシ血清アルブミンを含む PBST) 中において室温で 30 分間ブロッキングを行い、さらにブロッキング溶液で希釈した一次抗体溶液中において 4 °C で約 16 時間反応させた。用いた一次抗体の希釈率は次の通りである。ラビット抗 GFP 抗体 : 1/500、チック抗 Vasa 抗体 : 1/500。

その後、PBST で 3 回洗浄した後、さらに 30 分間ずつ 3 回洗浄したのち、ブロッキング溶液で希釈した二次抗体溶液中で 4 °C で約 16 時間反応させた。用

いた二次抗体の希釈率は次の通りである。Alexa488 標識ヤギ抗ラビット IgG 抗体 (Molecular Probe 社) : 1/500、Alexa546 標識ヤギ抗チック IgY 抗体 (Molecular Probe 社) : 1/500。また、二次抗体と同時に DAPI (タカラバイオ社) を最終濃度 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$ で加え、核染色をおこなった。

その後、PBST で 3 回洗浄した後、さらに 30 分間ずつ 3 回洗浄したのち、VECTASHIELD Mounting Medium (Vector 社) で封入した。

2. Ovo-A タンパク質の過剰発現による母性 Ovo-B タンパク質の機能解析

生殖系列における母性 Ovo-B の機能解析には以下の系統を用いた。生殖系列特異的に Gal4 を発現する系統として *nanos-Gal4-VP16* を利用した (Van Doren et al., 1998)。このトランスジーンは、*nanos* プロモータの働きにより生殖系列でのみ活性化し、卵形成期に転写された *Gal4-VP16* RNA は *nanos* 3'UTR を有するため、その働きにより極細胞質に局在し、始原生殖細胞中で Gal4-VP16 タンパク質を産生する。この母性 Gal4-VP16 により Ovo-A を発現させるため、*TM6B Dfd-YFP* (Bloomington Stock Center #23232) によって *nanos-Gal4-VP16* をバランスしたヘテロ接合体のメスと *UASp-ovoA* ホモ接合体のオス (林誠, 2008) を交配して得られた YFP 陽性の子孫について表現型を観察した (図 5B)。また、コントロールとして *UASp-ovo-A* の代わりに *y w* 系統オスと交配して得られた YFP 陽性の子孫の表現型を観察した。

2-1. 生殖系列の免疫染色

胚は 1-4 の項に記載した方法により免疫染色をおこなった。幼虫は、産卵さ

せた後 25 °C の保湿箱中で通常の餌の上で発生させた一令幼虫 (産卵後 36±2 時間)、二令幼虫 (産卵後 60±2 時間)、通常の餌バイアルで飼育した三令幼虫 (Wandering 期) を PBS 中で解剖した。一令幼虫、二令幼虫は腹側を裂くことで生殖巣を含む体内の組織を表面にさらし、三令幼虫は脂肪体ごと生殖巣を単離した。単離した組織は 2 ml の固定液 (4%パラホルムアルデヒドを含む PBS) 中で、室温で 15 分間固定し、1-4 の項に示した卵巣と同様の方法により免疫染色をおこなった。用いた抗体の希釈率は次の通りである。ラビット抗 Vasa 抗体 : 1/500、マウス Fas3 抗体 : 1/50、マウス 1B1 抗体 : 1/50 (Developmental Studies Hybridoma Bank)、Alexa488 標識ヤギ抗ラビット IgG 抗体 (Molecular Probe 社) : 1/500、Alexa546 標識ヤギ抗マウス IgG 抗体 (Molecular Probe 社) : 1/200 (Molecular Probe 社)。また、二次抗体と同時に DAPI を最終濃度 10 µg / ml で加え、核染色をおこなった。

3. マイクロアレイによる母性 Ovo-B の下流遺伝子の同定

3-1. マイクロアレイ解析

母性 Ovo-B の機能阻害胚として *EGFP-vasa; nanos-Gal4-VP16* ホモ接合体のメスと *UASp-ovoA* ホモ接合体のオスを交配して得られたステージ 16 の胚、コントロールとして *EGFP-vasa; nanos-Gal4-VP16* ホモ接合体のメスと *y w* 系統のオスを交配して得られたステージ 16 の胚から、Shigenobu et al. (2006a,b) の方法に従いセルソータを用いて始原生殖細胞を単離した。単離した始原生殖細胞から、RNeasy plus micro (キアゲン社) を用いて total RNA を抽出した。このうち 10 ng を使用して、Ovation PicoSL WTA System (NuGEN 社) により RNA の増

幅および cDNA の合成をおこなった。得られた cDNA を One-Color Labeling Kit (NimbleGen 社) を用いて Cy3 でラベルし、そのうち 1.65 μg を Drosophila V2 microarray (GPL16820, Agilent Technologies 社) にハイブリダイゼーションさせ、マイクロアレイスキャナー-G2505C US11093883 (Agilent Technologies 社) でスキャンをおこなった。スキャンしたデータは、Feature Extraction ver.10.7.1.1 software (Agilent Technologies 社) によってデータを回収した。得られた生データは quantile normalization によってサンプル間の正規化を行い、各プローブの発現量 E_{ij} を求めた。この値には、遺伝子型による変化量 G_i 、生物学的な反復 (今回は 3 反復の実験) に起因するノイズ R_j が含まれている。反復によるノイズを除き、Ovo-B の機能を阻害した時の発現量とコントロールの発現量を推定するため、Limma package (Gentleman et al., 2005) を用いて下記の線形モデルに当てはめた。

$$E_{ij} \sim G_i + R_j + \varepsilon_{ij}$$

E_{ij} は遺伝型 i (母性 Ovo-B 機能阻害またはコントロール) のとき反復 j における各プローブの発現量 (\log_2)、 ε は説明されない残差 (residual) を表している。遺伝子型による変化量 G_i について t-test により有意差検定を行い、p-value を算出した。すべてのプローブについて検定を行っているため、Storey 法 (Storey and Tibshirani, 2003) に基づき多重検定の補正を行い q-value を求めた。今回使用した Drosophila V2 microarray には、*vasa* を検出するプローブは含まれていなかった。また、*nanos* を検出するプローブは 3'UTR に対して設計されており、過剰発現に使用した UASp-Ovo-A からの転写産物をも検出してしまうため、内在性

の *nanos* の発現を検出することはできなかった。

3-4. RT-qPCR による *vasa* と *nanos* の発現解析

上記のように、今回使用したマイクロアレイでは内在性の *vasa* と *nanos* の発現を検出できないため、RT-qPCR により *vasa* と *nanos* の発現量を測定した。テンプレートにはマイクロアレイに使用した cDNA を使用した。*vasa* の発現を検出するプライマーとして、*vas-Fw* (5'- TGGAAGACCCCAGGTAGTGATTGTA-3') および *vas-Rv* (5'- AACGAGGTGCCTCCGTAAACAATA-3')、*nanos* の発現を検出するプライマーとして *nos-Fw* (5'- ACACGATTAAGTACTGCCCAAGAA-3') および *nos-Rv* (5'- CGCCCTCTCTAAACCTTCATCTGTT-3')を用いた。*CG14937* の発現を検出するプライマーとして、*CG14967-Fw* (5'- TCTGAACAAGATTCGTCCTTGCCTA-3') および *CG14967-Rv* (5'- GCATTGTTGATGACCAGACTTAGGG-3') を使用した。

PCR 反応およびデータの読み取りは、QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit (QIAGEN 社) および Light Cycler 480 system (Roche 社) を使用した。データ解析は、Light Cycler Software (Roche 社) および Microsoft Excel (Microsoft 社) を使用した。*CG14937* の発現量をもとに発現量の補正をおこない、*vasa* および *nanos* の相対発現量 (\log_2) を算出した。実験は独立した cDNA テンプレートを用いて、3 反復おこなった。

3-5. Gene Ontology 解析

本解析では、FlyBase (Release5.57) に基づく GO term を使用した。GO 解析

では、発現が変動した遺伝子群に高頻度に出現する (enrich している) GO term を統計学的に検出する方法である。ある GO term に属する遺伝子のうち、母性 Ovo-B の機能阻害によって発現が抑制された遺伝子 (GO_DEG) の数と抑制されなかった遺伝子 (GO_nonDEG) の数の比率と、同じ GO_term には属さない遺伝子のうち、母性 Ovo-B の機能阻害によって発現が抑制された遺伝子 (nonGO_DEG) の数と抑制されなかった遺伝子 (nonGO_nonDEG) の数の比率を Fisher's exact test を用いて有意差検定を行い、p-value を求めた。すべての GO term について検定を行っているため、Storey 法 (Storey and Tibshirani, 2003) に基づき多重検定の補正を行い q-value を求めた。また、Ovo-B の機能阻害によって発現が促進された遺伝子についても同様の解析をおこなった。

3-6. PGC-enriched genes と soma-enriched genes の選別

PGC-enriched genes と soma-enriched genes の選別には、ショウジョウバエゲノム上のタンパク質をコードする全遺伝子の発現を始原生殖細胞および胚全体においてマイクロアレイで解析した結果を用いた (重信、未発表)。まず、ステージ 15/16 (産卵後 11 時間 20 分から 13 時間 20 分) の始原生殖細胞における発現量と胚全体における発現量が有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に異なる遺伝子について発現量比 (\log_2) を算出した。さらに、各遺伝子の発現量比を母性 Ovo-B の機能阻害により変化した発現量 (\log_2) に対してプロットした。母性 Ovo-B が PGC-enrich genes の発現を促進する傾向があるかを調べるため、上記のように重信らによって発現が調べられている遺伝子のうち、母性 Ovo-B により発現が促進される遺伝子数と抑制される遺伝子数 (354:459) と、PGC-enriched genes

のうち母性 *Ovo-B* により発現が促進される遺伝子数と促進されない遺伝子数 (81:41) を Fisher's exact test を用いて有意差検定をした。また同様に、*Soma-enriched genes* (194:95)についても、有意差検定をおこなった。

4. RNAiによる母性 *Ovo-B* 下流遺伝子の機能解析

生殖系列における母性 *Ovo-B* の下流遺伝子の機能解析には表 4 に示した 34 の RNAi 系統を用いた。RNAi 系統ホモ接合体のオス (またはコントロールとして *y w* 系統のオス) と *nanos-Gal4-VP16* ホモ接合体のメスを交配し得られた子孫の表現型を解析した。Vienna Drosophila Resource Center (VDRC) から取り寄せた RNAi 系統の場合には、機能阻害の効果を高めるために *UAS-dicer2 ;nanos-Gal4-VP16* ホモ接合体のメスを使用した。交配は 25 °C で行い、その後成虫までの飼育は 30 °Cでおこなった。コントロール群および実験群の羽化 3 日目の成虫を PBS 中で解剖し、成熟した卵母細胞が少ない (左右一対の各卵巣あたり 3 つ以下) の卵巣、萎縮した精巣 (正常な精巣に比べて長さが 50%以下) を異常な生殖巣としてカウントした。有意差検定は Fisher's exact test によりおこなった。

4-1. 成虫生殖巣の免疫染色

卵巣は 1-4 の項に記載した方法により免疫染色をおこなった。精巣は 1-4 の項に記載した卵巣と同様の方法で単離および固定をおこなった。ただし、成虫精巣はブロッキングをおこなう前に 0.5 % TritonX-100 を含む PBS 中において室温で 15 分間処理した。用いた抗体の希釈率は次の通りである。チック抗 *Vasa*

抗体:1/500、マウス抗 Fas3 抗体:1/50、マウス抗 1B1 抗体:1/50 (Developmental Studies Hybridoma Bank)、Alexa488 標識ヤギ抗チック IgY 抗体 (Molecular Probe 社): 1/500、Alexa546 標識ヤギ抗マウス IgG 抗体 (Molecular Probe 社): 1/200 (Molecular Probe 社)。また、二次抗体と同時に DAPI (タカラバイオ社) を最終濃度 10 $\mu\text{g} / \text{ml}$ で加え、核染色をおこなった。

IV 結果

これまで、始原生殖細胞では転写促進因子をコードする *ovo-B* mRNA が優占的に発現していること、母性および胚性 **Ovo-B** タンパク質の機能を阻害した場合にはオスとメス共に生殖細胞を持たない成虫が生じることが明らかになってきた (林誠, 2008)。しかし、始原生殖細胞における **Ovo** タンパク質の発現、母性 **Ovo-B** タンパク質を機能阻害した場合の表現型、母性 **Ovo-B** が制御する下流遺伝子および生殖系列におけるそれら遺伝子の機能は不明であった。本研究では、これらの点について解析することにより、始原生殖細胞における母性 **Ovo** の機能を明らかにすることを試みた。

胚発生過程における **Ovo** タンパク質の発現

これまで、*in situ* hybridization および RT-qPCR により、胚発生過程の始原生殖細胞において *ovo-B* と *ovo-A* mRNA が発現しており、*ovo-A* mRNA の発現量は *ovo-B* mRNA の約 1/100 程度であることが明らかにされていた (林誠, 2008)。このことは、始原生殖細胞に優占的に発現しているのは転写促進因子をコードする *ovo-B* mRNA であることを示している。しかし、**Ovo** タンパク質の発現はこれまで明らかにされていなかった。そこで、本研究ではまず、始原生殖細胞において **Ovo** タンパク質の発現解析をおこなった。

当初、**Ovo** タンパク質を認識する抗体の作成を試みたが、免疫染色に使用できる抗体の作成には至らなかった。そこで、以下のとおり *ovo* ゲノム領域に EGFP を挿入した系統を樹立し、**Ovo-EGFP** 融合タンパク質の検出を試みた。

EGFP 挿入系統の作成には CRISPR / Cas9 システムを利用し、Ovo-A 蛋白質の N 末端に EGFP を挿入した *ovoA-Nterm-EGFP* 系統、Ovo-B 蛋白質の N 末端に EGFP を挿入した *ovoB-Nterm-EGFP* 系統を作成した (図 2)。*ovoA-Nterm-EGFP* 系統では Ovo-A タンパク質のみが、*ovoB-Nterm-EGFP* 系統では、Svb、Ovo-A、Ovo-B 全てが EGFP 融合タンパク質となる。*ovoA-Nterm-EGFP* および、*ovoB-Nterm-EGFP* 系統 [*ovo* 遺伝子は第 1 (X) 染色体に存在するため、この系統のメスでは *ovoA-Nterm-EGFP* あるいは *ovoB-Nterm-EGFP* ホモ接合となっており、オスでは Y 染色体とのヘミ接合となっている] の始原生殖細胞は正常に発生し、*ovo* の機能が失われたときにみられる表現型は観察されなかった (Oliver et al., 1987)。したがって、*ovoA-Nterm-EGFP* および *ovoB-Nterm-EGFP* で発現する Ovo-EGFP タンパク質は正常に機能しており、Ovo タンパク質の正常な発現を調べることができると考えられる。

はじめに、胚発生過程における始原生殖細胞での Ovo タンパク質の発現を調べた。ショウジョウバエの初期胚発生過程 (図 1) では、まず核分裂のみが行われ (ステージ 2)、核が表層へと移動し細胞化する。このとき、後極に移動した核は極細胞質とともにくびれだして極細胞芽を形成し (ステージ 3)、始原生殖細胞となる (ステージ 4)。その後、始原生殖細胞は後部中腸原基の陥入に伴って移動し (ステージ 6-8)、袋状の後部中腸原基に取り込まれる (ステージ 8)。続いて、後部中腸原基の細胞層を通り抜け (ステージ 9-10)、生殖巣を構成する中胚葉性の細胞と接する (ステージ 12)。始原生殖細胞はこれらの中胚葉性の細胞と接した状態で胚の内部を移動し、最終的に腹部において一対の生殖巣を形成

する (ステージ 14)。 *ovoB-Nterm-EGFP* 系統の胚では、ステージ 2 では胚の細胞質全体に均一に Ovo-EGFP シグナルが検出された (図 6A)。核が胚の表層へと移動し極細胞芽を形成するステージ 3 および始原生殖細胞が形成されるステージ 4 においては、体細胞領域と始原生殖細胞の核に Ovo-EGFP シグナルの局在がわずかに観察された。体細胞の細胞化が開始するステージ 5 では始原生殖細胞の核にのみ強いシグナルが観察され、体細胞の核には有意なシグナルは観察されなかった。ステージ 5 以降の移動期、また生殖巣に取り込まれるステージ 14 以降、少なくともステージ 16 までは継続して始原生殖細胞の核に強い Ovo-EGFP シグナルが観察された。一方、 *ovoA-Nterm-EGFP* 系統の胚では、胚発生期において Ovo-EGFP の有意なシグナルは検出されなかった (図 6B)。以上の結果は、始原生殖細胞において *ovo-B* mRNA が検出され、 *ovo-A* mRNA はほとんど検出されないという RT-qPCR の結果と一致している (林誠, 2008)。これらを考え合わせると、始原生殖細胞では Ovo-A タンパク質の発現はごくわずかであり、Ovo-B タンパク質が優占的に発現していると結論付けられる。

次いで、母性および胚性 Ovo-B タンパク質の始原生殖細胞における発現時期を調べた。そのために、母性 Ovo-EGFP のみを発現する胚、胚性 Ovo-EGFP のみを発現する胚を用いて免疫染色をおこなった。まず、母性 Ovo-EGFP のみを発現する胚として *ovoB-Nterm-EGFP* へテロ接合メス (*ovoB-Nterm-EGFP/FM7c Dfd-YFP*) と *y w* 系統のオスと交配し得られる胚を観察した (図 7A)。 balancer 染色体に含まれる YFP マーカーは胚発生ステージ 11 から発現するため (Le et al., 2006)、それ以降の胚は *ovoB-Nterm-EGFP* を持たない YFP 陽性個体を観察した。その結果、形成された直後 (ステージ 5) から移動中 (ステ

ージ 9)、生殖巣中 (ステージ 14/16) の始原生殖細胞まで継続して、母性 *Ovo-EGFP* シグナルが観察された (図 7B)。

一方、胚性 *Ovo-EGFP* のみを発現する胚として *y w* ホモ接合メスと *ovoB-Nterm-EGFP* 系統のオスを交配し得られる胚を観察した (図 7A)。*ovo* 遺伝子は X 染色体上に位置するため、得られる胚のうちメスだけが *ovoB-Nterm-EGFP* を持ち、胚性 *Ovo-EGFP* の発現を調べることができる。この胚では、生殖巣に移動後 (ステージ 14) 以降の始原生殖細胞でのみ、ごくわずかに *Ovo-EGFP* シグナルが観察された (図 7C)。

母性に供給される *Ovo-EGFP* が胚発生後期の始原生殖細胞まで残ること、また胚性に発現する *Ovo-EGFP* がわずかであることから、胚発生期を通じて始原生殖細胞に発現している *Ovo-B* タンパク質の大部分は母性に供給されていることが明らかになった。また、*ovo* は転写因子をコードしており、*Ovo* タンパク質は核内に局在して機能すると考えられてきたが、これまでに核への局在は観察されていなかった。本研究では始原生殖細胞における *Ovo* タンパク質の核への局在が初めて観察された。このことは、母性 *Ovo-B* タンパク質が胚発生期間を通じて、始原生殖細胞において転写制御をおこなっていることを示唆している。

母性 *Ovo-B* タンパク質の機能阻害

母性 *Ovo* タンパク質の始原生殖細胞における機能を調べるには、*ovo* 変異体のメスに由来する胚での始原生殖細胞の発生を調べる必要がある。しかし、卵形成に *ovo* 遺伝子が必要なため *ovo* 変異ホモ接合メスは卵を作ることができない (Mével-Ninio et al., 1991; Oliver et al., 1987)。そこで、先行研究では *Ovo-B*

と拮抗して働く *Ovo-A* (Andrews et al., 2000) を Gal4/UAS システムを用いて胚発生期から成虫まで継続して生殖系列で過剰発現させ、母性および胚性 *Ovo-B* を機能阻害した。その結果、オスとメス共に生殖細胞を欠く不妊の表現型が観察された (林誠, 2008)。この表現型は *Ovo-A* とともに *Ovo-B* を発現させることによって回復するため、*Ovo-B* の機能が阻害されたことが原因と考えられる。しかし、母性 *Ovo-B* だけを機能阻害した場合にも同様の表現型が得られるかは調べられていなかった。そこで本研究では、母性 *Ovo-B* が、オスとメスにおける生殖系列の発生に必要であることを明らかにするため、始原生殖細胞において母性 *Ovo-B* が発現する期間に *Ovo-A* を過剰発現させ、*Ovo-B* の機能を阻害した場合の表現型を調べた。

まず、先行研究で使用していた Gal4 系統 (*nanos-Gal4-VP16*) と *UASp-ovoA* 系統を用いて先行研究の追試をおこなった。生殖系列に Gal4 を発現させる *nanos-Gal4-VP16* ホモ接合メスと *UAS-ovoA* ホモ接合オスを交配し得られた個体は、母性および胚性の *nanos-Gal4-VP16* を有し (図 5A)、胚発生ステージ 11 から成虫まで継続して生殖系列において Gal4-VP16 を発現し、UAS 下流の *Ovo-A* が発現する (図 5C)。この方法により母性および胚性の *Ovo-B* の機能を阻害したところ、先行研究と同じように、オスとメス共に一令幼虫から生殖系列の細胞数が減少し、成虫は生殖細胞を持たない不妊となることを確認した (data not shown)。

次に、ステージ 11 からステージ 17 の胚発生期において、始原生殖細胞で *Ovo-A* を過剰発現させ、母性 *Ovo-B* の機能を阻害した場合の表現型を調べた。機能阻害には、先行研究と同じ Gal4 系統 (*nanos-Gal4-VP16*) と *UASp-ovoA* 系

統を用いた。ただし、胚発生期よりも後の発生過程において生殖系列で **Ovo-A** の過剰発現が起こらないようにするため、*nanos-Gal4-VP16* ヘテロ接合メス (*nanos-Gal4-VP16 / TM6B Dfd-YFP*) と *UASp-ovoA* ホモ接合オスを交配し、胚性 *nanos-Gal4-VP16* を持たない個体 (頭部で **YFP** を発現する個体) について観察をおこなった (図 5B)。この交配で得られる **YFP** 陽性個体は、*nanos-Gal4-VP16* を有しておらず、母性に供給される **Gal4-VP16** により、胚発生ステージ 11 から 17 までの期間において始原生殖細胞で **UAS** 下流の **Ovo-A** が発現し、1 令幼虫期の生殖系列細胞では **Ovo-A** の発現は起こらない (data not shown) (図 5C)。この方法を用いて始原生殖細胞で **Ovo-A** の過剰発現を行い、胚発生後期 (ステージ 16)、一令幼虫、二令幼虫、三令幼虫の生殖巣に含まれる生殖系列の細胞数をカウントした。メスの生殖系列の細胞は胚発生の後期から徐々に減少し(図 8A)、ほとんどの成虫 (82%) が生殖細胞を欠く不妊の成虫となった (観察した成虫の数 $n=72$)。一方、オスの生殖系列の細胞数は一令幼虫で統計学的に有意に減少した。しかし、その後の発生期間中に細胞数が回復し(図 8B)、すべての成虫が妊性を有していた ($n=65$)。

以上のように、母性 **Ovo-B** が発現する胚発生期間において **Ovo-B** の機能を阻害したところ、メスにおいて生殖系列の細胞数が減少し、成虫は不妊となった。一方、オスでは、母性および胚性 **Ovo-B** の機能を阻害した場合と同様に、一令幼虫で生殖系列の細胞数が減少した。しかし、その後の発生過程において生殖系列の細胞数が回復し、成虫は不妊にはならなかった。以上の表現型は、オスでも生殖系列の発生過程に異常が観察できる点、メスで異常が観察できるのが 1 令幼虫からである点において、胚性 **Ovo-B** の機能を欠いた場合の表現型 (メ

スでのみ 3 令幼虫以降の生殖巣中で生殖系列細胞数の減少が観察される) とは明らかに異なる (Oliver et al., 1987)。また、先行研究を行った林誠により、胚性 **Ovo-B** の機能を欠いたオスの変異体では、1 令幼虫において生殖系列細胞数の減少は起きていないことが確認されている (data not shown)。以上の結果は、母性 **Ovo-B** が、オスとメスにおける生殖系列の発生に必要であることを強く示唆している。

今回、母性および胚性 **Ovo-B** の機能を阻害した先行研究と比較し、母性 **Ovo-B** を機能阻害した場合には弱い表現型しか観察されなかった。この理由として、**Ovo-B** の機能と拮抗する **Ovo-A** を発現させるために母性供給される **Gal4-VP16** が先行研究の約半量であったためと考えられる。これは、母性および胚性 **Ovo-B** の機能を阻害した先行研究では、メス親は 2 コピーの *nanos-Gal4-VP16* トランスジーンを有するのに対し (図 5 A)、母性 **Ovo-B** を機能阻害した場合には、メス親は 1 コピーのトランスジーンしか持たないことに起因する (図 5 B)。現在のところ、他の染色体上で機能する *nanos-Gal4-VP16* は報告されておらず、後者の実験においてメス親に 2 コピーのトランスジーンを持たせることはできないが、今後行うべき実験と考える。

始原生殖細胞における母性 **Ovo-B** の下流遺伝子の同定

母性 **Ovo-B** の機能阻害実験から、母性 **Ovo-B** は生殖細胞の発生に必要であることが明らかとなった。**Ovo-B** は特異的なゲノム DNA 配列に結合し、標的遺伝子の転写を制御することが知られている転写促進因子である (Andrews et al., 2000; Mével-Ninio et al., 1991)。しかし、これまでに始原生殖細胞において

母性 **Ovo-B** により転写が制御される遺伝子の網羅的な同定は行われていない。そこで、そのような下流遺伝子をマイクロアレイ解析により同定することを試みた。

母性 **Ovo-B** が制御する胚性遺伝子 (zygotic genes) を網羅的に同定するため、胚発生後期 (ステージ 16) の **Ovo-B** 機能阻害胚、正常胚から始原生殖細胞のみをセルソーターを用いて回収し (Shigenobu et al., 2006a)、ゲノム上の各遺伝子がコードする RNA 発現量を比較した。その結果、マイクロアレイによって検出できる 13936 遺伝子のうち、**Ovo-B** の機能阻害によって有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に発現が減少した遺伝子が 401 (表 5)、逆に増加した遺伝子が 510 (表 6) 同定された。

これまでに、当研究室の谷津らによって行われた先行研究により、初期胚への dsRNA のインジェクションにより母性 *ovo* の機能を阻害すると、生殖系列特異的遺伝子である *vasa* と *nanos* の発現が減少することが示されている。残念ながら、今回使用したマイクロアレイには内在性の *vasa* および *nanos* の発現を検出できるプローブが含まれていなかったため (詳細は材料および方法を参照)、RT-qPCR により *vasa* および *nanos* の発現量を調べた。しかし、正常な始原生殖細胞における *vasa* の発現量 [平均値 \pm SEM (反復数 N): 0 ± 0.27 (N = 3)] と、**Ovo-B** の機能を阻害した始原生殖細胞における発現量 [0.11 ± 0.14 (N = 3)] には有意な差は認められなかった (Student's t-test: $P > 0.05$)。同様に、正常胚始原生殖細胞における *nanos* の発現量 [0 ± 0.08 (N = 3)] と **Ovo-B** 機能阻害始原生殖細胞における発現量 [0.28 ± 0.22 (N = 3)] にも有意な差は認められなかった ($P > 0.05$)。

次に、同定された母性 Ovo-B の下流遺伝子が果たす機能を明らかにするため、Gene Ontology (GO) 解析をおこなった。GO term とは、遺伝子が関わる生物学的プロセスや分子機能に関するアノテーションであり、GO 解析では、発現が変動した遺伝子群に高頻度に出現 (enrich) する GO term を統計学的に検出することで、どのような機能や経路に関連する遺伝子が多く含まれているのかを調べることができる。母性 Ovo-B の機能阻害により発現が減少した遺伝子群の GO 解析の結果、有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に enrich する GO は検出されなかったものの、enrich する傾向が強かった GO term の上位にトランスポゾンの転移抑制 (GO: 0010529) が検出された ($p\text{-value} = 0.0007$) (表 7)。この GO term に属し母性 Ovo-B の機能阻害により発現が有意に減少する遺伝子は、*piwi*、*aubergine* (*aub*)、*tejas* (*tej*) であった。これらの遺伝子は生殖系列で高発現しており、これらの遺伝子が関わる piRNA 産生によるトランスポゾンの転移抑制が、ショウジョウバエやマウスの生殖系列において観察されている (Aravin et al., 2007; Grivna et al., 2006; Kalmykova, 2005; Patil and Kai, 2010)。以上の知見より、母性 Ovo-B は始原生殖細胞において生殖系列で高発現する遺伝子の活性化に関わるのではないかと考えた。

一方、Ovo-B の機能阻害によって発現が増加した遺伝子群には、グルタチオン転移 (GO:0004364)、グルタチオン代謝 (GO:0006749)、生殖巣 (生殖巣を構成する体細胞) の発生 (GO:0008406)、成長因子 (GO:0008083)、筋組織の発生 (GO:0007517)、成虫脚の形態形成 (GO:0016348)、胚背部の閉鎖 (GO:0007391) に関わる遺伝子が有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に enrich していた (表 8)。母性 Ovo-B の機能阻害により発現が有意に減少していたグルタチオン転移およびグルタチ

オン代謝に関わる遺伝子の多く（14 遺伝子中 12 遺伝子）は GST 遺伝子のパラログであり、ゲノム上の 2 箇所に nest しているため、その発現が Ovo-B により一括して制御されていると考えられる。また、有意に enrich していた遺伝子の多くは、それぞれの GO term で規定される生物現象にのみ関わるのではなく、種々の体細胞分化に関わる機能を有しており、Berkeley Drosophila Genome Project (BDGP) および Fly-FISH の胚における発現を参照する限りにおいて、始原生殖細胞において顕著な発現を示す遺伝子は含まれていなかった。

以上の結果から、母性 Ovo-B が生殖系列に高発現する遺伝子の発現を促進し、逆に体細胞の発生に関わる遺伝子の発現を抑制している可能性が考えられる。この可能性について検証するため、さらに以下の解析をおこなった。まず、ステージ 15 の胚全体、およびそこから単離した始原生殖細胞における遺伝子発現をマイクロアレイを用いて解析したデータを基にして（重信 未発表）、胚全体と比較して始原生殖細胞で有意（ $q\text{-value} < 0.05$ ）に高発現する遺伝子（PGC-enriched genes）と、逆に始原生殖細胞と比較して胚全体で有意に（ $q\text{-value} < 0.05$ ）高発現する遺伝子（soma-enriched genes）を選別した。母性 Ovo-B の下流遺伝子のうち、122 の遺伝子が PGC-enriched genes であり、そのうち 81 の遺伝子が母性 Ovo-B によって発現が促進されていた（表 9、図 9）。一方、母性 Ovo-B 下流遺伝子のうち、289 の遺伝子は soma-enriched genes であり、そのうち 194 の遺伝子が母性 Ovo-B によって発現が抑制されていることが明らかになった（表 10、図 9）。これらの結果をもとに、図 9 および「材料および方法」に記した有意差検定を行った結果、有意差（ $p < 0.05$ ）が得られ、母性 Ovo-B が始原生殖細胞において、PGC-enriched genes の発現を促進し、

Soma-enriched genes の発現を抑制することが明らかとなった。

母性 Ovo-B 下流遺伝子の機能解析

上記の解析により、母性 Ovo-B が PGC-enriched genes の発現を促進していることが明らかになった。しかし、これらの遺伝子が生殖細胞の発生に必要な否かは不明である。そこで、母性 Ovo-B 下流遺伝子の生殖系列における機能阻害実験を行った。機能阻害をおこなう遺伝子は以下のように選択した。母性 Ovo-B によって発現が促進される遺伝子を、始原生殖細胞と胚全体での発現量の比が高いものから順にソートし (表 9)、それぞれの遺伝子の機能を特異的に阻害する RNAi 系統がストックセンターに存在するもののうち (表 4)、上記発現量比が高い遺伝子 *Ribosomal protein L22-like (RpL22-like)*、*CG12477*、*CG11638*、遺伝子発現を制御できる DNA 結合タンパク質をコードする遺伝子 *Ets at 98B (Ets98B)*、*CG3838*、*CG9650*、*CG17801*、*escargot (esg)*、*earthbound 1 (edb1)*、*Histone H1 variant BigH1 (BigH1)*、*CG12477*、さらに RNA 結合タンパク質をコードする遺伝子 *oo18 RNA-binding protein (orb)*、*spargel (srl)*、*hoi-polloi (hoip)*、*La autoantigen-like (La)*、*piwi* を選択した。これらの 16 遺伝子のうち、*hoip*、*piwi*、*BigH1*、*edb1* の機能を生殖系列特異的に阻害した場合には、メスにおいて成熟した卵母細胞が少ない異常な卵巣が有意に多く (58.8%、100%、8.0%、47.2%)、オスにおいては正常な精巣に比べて全長が 50% 以下に萎縮した異常な精巣が有意に多く (97.6%、100%、13.5%、8.6%) 観察された (図 10)。特に、*BigH1* の機能を阻害した場合には、正常な卵巣と異常な卵巣を共に有する個体が複数観察された。この表現型は、初期の始原生殖細胞の

発生に異常が起きた場合に見られる典型的な表現型である (Engels and Presto, 1978)。また、生殖系列特異的に *CG11638*、*La*、*orb*、*srl*、*RpL22-like*、*esg*、*CG9650* の機能を阻害した場合にはオスの生殖巣は正常であるが、異常な卵巢が有意に多く観察された (それぞれ 24.2%、100%、100%、69.6%、76.7%、8.5%、9.4%) (図 11)。以上の結果は、これら母性 *Ovo-B* により発現が促進される下流遺伝子が生殖細胞の発生に必要であることを示唆している。

V 考察

母性 Ovo-B タンパク質の始原生殖細胞の核への局在

本研究により、母性 Ovo-B タンパク質は、胚全体に供給されるものの、胞胚期には始原生殖細胞の核にのみ強く分布することが明らかになった。母性 Ovo-B が体細胞で高発現する遺伝子の発現を抑制し、始原生殖細胞で高発現する遺伝子の発現を促進する機能をもつことを考慮に入れると、体細胞において母性 Ovo-B の機能を抑制すること、始原生殖細胞において母性 Ovo-B を核に局在させ機能させることが共に重要であると考えられる。

体細胞において母性 Ovo-B の機能を抑制するために、胚全体に供給される母性 *ovo-B* RNA と Ovo-B タンパク質の体細胞領域における分解が重要な役割を持つと予測できる。母性タンパク質の体細胞における分解機構はこれまで報告されていないが、母性 mRNA の分解機構として、3'UTR 配列を介した制御が報告されている(Bashirullah et al., 1999)。このように体細胞領域で分解され、始原生殖細胞で維持される母性 mRNA の 3'UTR 中には保存された配列が見られないため、母性 *ovo-B* RNA が同じ機構で分解を受けるのかは明らかではない。一方、始原生殖細胞では、母性に供給される Ovo-B タンパク質に加え、母性 *ovo-B* mRNA から新規にタンパク質が産生され、核に移行し機能すると考えられる。Ovo-B タンパク質を核に局在させる機構は不明であるが、Importin が関与する可能性が考えられる。Importin は基質を認識する Imp- α と核膜複合体と相互作用する Imp- β から構成されているタンパク質複合体であり、核移行シグナル (NLS) を持つタンパク質を核へと輸送する機能をもつ。ショウジョウバエの

ゲノム上には *imp- α 1* (*karyopherin α 1*)、*imp- α 2* (*Pendulin*)、*imp- α 3* (*karyopherin α 3*) が存在している。*imp- α 1* RNA は、初期胚において極めて低いレベルでしか検出されないが、*Imp- α 2*、*Imp- α 3* RNA は、母性 mRNA として胚全体に供給される (FlyBase 参照)。*Imp- α 2* タンパク質は、始原生殖細胞中においてその産生が翻訳レベルで抑制されているが (浅岡 ; 私信)、*Imp- α 3* タンパク質は、胚発生ステージ 4 以降に体細胞および始原生殖細胞において検出されるようになる (Fang et al., 2001)。興味深いことに、この時期は、母性 *Ovo-B* タンパク質が始原生殖細胞の核に局在する時期と一致している。*Ovo-B* タンパク質が *Imp- α 3* の働きにより始原生殖細胞の核へと移行するかは今後明らかにするべき点である。

以上のように、母性 *Ovo-B* タンパク質が、胞胚期において始原生殖細胞の核のみに強く局在するために、複数の制御機構が働いていると考えられる。

母性 *Ovo-B* により制御される下流遺伝子

本研究により同定された母性 *Ovo-B* の下流遺伝子の解析により、胚全体に比べて始原生殖細胞で高発現する遺伝子の多くは母性 *Ovo-B* によって転写が促進され、逆に胚全体で発現が高い遺伝子の多くは転写が抑制されることが明らかとなった。極細胞質には体細胞の分化を抑制する母性因子と生殖系列の分化を促進する母性因子が含まれていると考えられてきたが、これら二つの機能を併せ持つ母性因子が同定されたのは初めてのことである。

マイクロアレイ解析に続いておこなった Gene Ontology 解析では、母性 *Ovo-B* が抑制する遺伝子群に体細胞の発生に関わる GO term が有意に enrich

することが明らかになった (表 8)。一方、母性 Ovo-B が促進する遺伝子群にはトランスポゾンの転移抑制の GO term が enrich する傾向がみられたものの、有意に enrich する GO term は検出できなかった (表 7)。この一因として、Ovo-B によって転写が促進する遺伝子の約半数 (47%) が、遺伝子名に CG 番号 (Computed gene number; 機能が既知/未知を問わず全ての遺伝子にこの CG 番号が割り振られている) しか付けられていない遺伝子であることが挙げられる。CG 番号のみの遺伝子は EST 解析などで遺伝子であると予測されるが、機能は未知の遺伝子であるため、GO term がほとんど割り当てられていない。しかし、これら母性 Ovo-B の下流遺伝子として同定された CG 遺伝子は、始原生殖細胞において機能を持つことが期待できる遺伝子である。本研究によってこれまで着目されていなかった生殖細胞の発生制御に関わる候補遺伝子が同定できたことにより、生殖細胞の発生を制御する新たな機構解明に繋がることが期待できる。実際に、図 1 1 から、CG 遺伝子のうち、CG11638、CG9650 の機能阻害が生殖細胞の形成に影響を与えることが明らかとなった。

母性 Ovo-B による始原生殖細胞における体細胞性遺伝子の発現抑制

母性 Ovo-B の下流遺伝子の解析によって、母性 Ovo-B は体細胞性遺伝子の発現を抑制していることが明らかにされた。これまでに、始原生殖細胞において体細胞性遺伝子を抑制する母性因子として *pgc* RNA および *nanos* RNA が同定されている。*pgc* RNA は 71 アミノ酸からなるペプチドをコードし、そのペプチドが pTEFb と呼ばれるタンパク質複合体の機能を抑制することで RNA ポリメラーゼ II によるゲノムワイドな遺伝子発現を抑制することが知られている

(Nakamura, 2009)。一方、*nanos* RNA は Nanos タンパク質をコードし、Pumilio タンパク質とともに特定の mRNA に結合し、その翻訳を抑制する (Asaoka-Taguchi et al., 1999; Hayashi et al., 2004; Kadyrova et al., 2007)。Nanos は、体細胞性遺伝子の発現に必要な転写因子の核移行に関わるタンパク質の産生を、翻訳レベルで抑制することが最近明らかになった (Asaoka et al., 未発表)。さらに、本研究によって母性 Ovo-B は体細胞性の遺伝子の発現を抑制する 3 番目の母性因子であることが明らかになった。Ovo-B は特異的な DNA 配列に結合する転写因子であるため、Pgc および Nanos とは異なる体細胞性遺伝子の抑制機構に関わっていることが期待できる。

転写促進因子 Ovo-B が体細胞特異的な遺伝子の発現を抑制する機構として、母性 Ovo-B が転写を促進する下流遺伝子による抑制が考えられる。例えば、*BigH1* は母性 Ovo-B によって発現が促進される下流遺伝子のうちのひとつである。*BigH1* はヒストン H1 のバリエントであり、卵割期から胚性の発現が観察され、胞胚期では体細胞とともに始原生殖細胞にも取り込まれる。その後、体細胞では *BigH1* の発現が消失するが、始原生殖細胞では胚発生過程を通じて維持される。さらに、*BigH1* 突然変異のホモ接合胚では、*BigH1* が消失した後に活性化する体細胞性遺伝子が早期に発現することが報告されていることから (Pérez-Montero et al., 2013)、*BigH1* は遺伝子発現を抑制する機能を持つと考えられる。したがって、母性 Ovo-B に発現が促進される *BigH1* により、始原生殖細胞において体細胞性遺伝子の発現が抑制されている可能性が考えられる。実際に本研究では、始原生殖細胞における *BigH1* の機能阻害により、*BigH1* がオスとメスの生殖細胞の発生に必要であることを示唆する結果が得られている

(図 10)。 *BigH1* の機能が失われた始原生殖細胞において体細胞性遺伝子が異所的に発現しているか、もしそうであれば、どのようにヒストン H1 バリエントが体細胞性遺伝子と生殖系列特異的な遺伝子を区別して制御しているのかを明らかにすることは、今後の課題である。

母性 Ovo-B により始原生殖細胞において活性化される遺伝子群の働き

本研究では、 *BigH1* 以外に *piwi*、 *hoip* および *ebd1* がオスとメスの生殖細胞の発生に必要であることを示唆する結果を得ている。

piwi はヘテロクロマチンの形成やトランスポゾンの転移抑制に関わる piRNA の産生に必須な遺伝子である (Brower-Toland et al., 2007; Sienski et al., 2012)。本研究により、母性 Ovo-B の下流遺伝子として *piwi* が新たに同定されたことにより、以前の研究結果 (Yatsu et al., 2008) と合わせて考えると、生殖系列特異的遺伝子である *piwi*、 *vasa*、 *nanos* が母性 Ovo-B により制御されていることが明らかになった。当研究室の谷津らは、 *piwi* については調べていないものの、 dsRNA インジェクションにより *ovo* の機能を阻害した場合には *vasa* と *nanos* の転写活性化が抑制されることを報告している (Yatsu et al., 2008)。しかし、本研究で使用した Ovo-A の過剰発現による Ovo-B の機能阻害胚の始原生殖細胞においては、 *vasa* と *nanos* の有意な発現量の減少は検出されなかった。この一因として、プロモータ領域に Ovo の結合モチーフ (Bielinska et al., 2005; Lee and Garfinkel, 2000) がない *vasa* と *nanos* は母性 Ovo により間接的に転写を制御されており、谷津らが用いた dsRNA のマイクロインジェクションによる強い機能阻害を行った場合にのみ発現が変化する可能性が考えら

れる。一方、*piwi*はプロモータ領域に4つのOvo結合モチーフをもつことから、母性Ovo-Bにより直接活性化されている可能性が非常に高い。先行研究および本研究のこれらの結果は、母性Ovo-Bが生殖系列特異的遺伝子の発現制御に重要な役割を担っていることを強く示唆している。

本研究では、*piwi*の他にもトランスポゾン転移の抑制に関与することが報告されている *aubergin (aub)* (Simmons et al., 2007) と *tej* (Patil and Kai, 2010) が母性Ovo-Bにより発現促進されることを明らかにした。とくに *piwi* および *aub* は PGCs-enriched genes であり、生殖系列におけるトランスポゾンの転移の抑制に重要な機能をもつことが知られている (Klenov et al., 2011)。これらの結果は、始原生殖細胞における母性Ovo-Bの機能の一つがトランスポゾン転移抑制機構の活性化であることを示唆している。

hoip は mRNA のスプライシングに必要な因子をコードする遺伝子である (Herold et al., 2009)。*hoip* は胚発生後期の始原生殖細胞で高発現するものの (重信 未発表)、これまでに生殖系列における詳細な機能解析は行われていない。*hoip* は筋細胞における特異的なスプライシング制御に関わることが報告されている (Johnson et al., 2013)。本研究によって生殖細胞の発生に必要な遺伝子として新たに *hoip* が同定されたことによって、母性Ovo-Bに制御される生殖系列特異的なスプライシング制御機構が存在する可能性が示された。

ebd1 は DNA 結合性 CenpB-type ドメインを含むタンパク質をコードしている (Tanaka et al., 2005)。*ebd1* は Wnt シグナルにおいて、 β -カテニンと転写因子 TCF のアダプターとして働き、細胞特異的に遺伝子の転写活性を制御することが報告されている (Benchabane et al., 2011)。胚発生後期の始原生殖細胞

において *ebd1* が高発現すること (重信、未発表)、また同時期の生殖巣を構成する体細胞において Wnt シグナルのリガンドである *Wnt2* が発現することは (DeFalco et al., 2003)、始原生殖細胞において Wnt シグナルが活性化している可能性を示している。これまで、始原生殖細胞における Wnt シグナルの活性について詳細な解析は行われていない。母性 *Ovo-B* が *ebd1* を介して Wnt シグナルによる遺伝子制御に関わっている可能性を明らかにするためには、今後、Wnt シグナル経路で働く因子の発現を調べる必要がある。

さらに、上記の遺伝子に加えて *orb*、*esg*、*RpL22-like*、*srl*、*La*、*CG11638*、*CG9650* の機能がメスの生殖細胞の発生に必要であることが明らかになった。*orb* は卵形成過程の卵母細胞に特異的に発現し、前後軸の決定に重要な機能を持つことがすでに報告されている (Christerson and McKearin, 1994)。また、*esg* はオスの生殖巣を構成する体細胞において細胞接着タンパク質である DE-cadherin (*Shg*) の発現を促進することが報告されている (Voog et al., 2014; Yamashita, 2003)。生殖系列における *esg* の発現は調べられていないが、未分化シグナルを分泌するニッチ細胞と生殖幹細胞の隣接に必要な *Shg* (Song et al., 2002) の発現を介して生殖幹細胞の維持を制御している可能性が考えられる。これら遺伝子が始原生殖細胞において母性 *Ovo-B* により発現が促進される意義については、今後明らかにすべき点である。

さらに、*RpL22-like* はリボソームタンパク質をコードしており、胚発生後期の生殖巣で高発現する (Shigenobu et al., 2006b)。*RpL22-like* のパラログである *RpL22* は胚全体にユビキタスに発現すること、*RpL22-like* が C 末端側のアミノ酸を欠いた short 型のタンパク質を発現することから (Kearse et al., 2011)、

RpL22 とは異なる RpL22-like の機能が生殖細胞の発生に必要なことが考えられる。その他、詳細な機能はわかっていないが、タンパク質合成・細胞成長を制御するインシュリン/TOR シグナル経路の下流因子をコードする *srl* (Tiefenböck et al., 2010)、5S rRNA に結合し安定化させるタンパク質をコードする *La* (Preisner et al., 1993)、カルシウム結合ドメインを持つタンパク質をコードする *CG11638*、DNA 結合ドメインを持つ *CG9650* などがメスの生殖細胞の発生に必要な遺伝子として同定された。これらの遺伝子が生殖系列のどの時期にどのような機能を有しているかは今後解析する必要がある。

以上のように、母性 *Ovo-B* の下流遺伝子の機能阻害を行った場合、メスの生殖系列でのみ機能を持つものが多く含まれていた。このことは、母性 *Ovo-B* が始原生殖細胞において、メス特異的遺伝子の発現を促進している可能性を示唆している。しかし、ステージ 12-16 のオスとメスの始原生殖細胞における遺伝子発現を RNA-seq により解析したデータによると (太田 未発表)、母性 *Ovo-B* により発現が促進される 401 遺伝子のうち、メスの始原生殖細胞で有意に高発現 ($q < 0.05$) する遺伝子は 72 個であるのに対し、オスの始原生殖細胞で有意に高発現 ($q < 0.05$) する遺伝子は、114 個であり、残りはオスとメスで発現に差がないものであった。また、本研究において、メスでのみ表現型が観察された 7 つの母性 *Ovo-B* 下流遺伝子のうち、*orb*、*esg*、*RpL22-like*、*srl*、*La* は、メスに比べてオスの始原生殖細胞における発現が有意に高く、メスの始原生殖細胞における発現が有意に高い遺伝子は *CG9650* のみであった (*CG11638* はオスメスの発現量に差がない遺伝子であった)。以上のことから、母性 *Ovo-B* は、メス始原生殖細胞で高発現する遺伝子の発現を促進しているだけでなく、

オス始原生殖細胞で高発現する遺伝子の発現促進にも関わることが明らかとなった。

生殖系列における *ovo* の機能の進化的保存性

本研究および先行研究の成果により、ショウジョウバエの母性 **Ovo-B** は始原生殖細胞において *vasa*、*nanos*、*piwi* の発現活性化に関わることが明らかになった (Yatsu et al., 2008)。これら 3 つの遺伝子は脊椎動物を含む様々な動物種において保存されており、生殖系列を特徴付けるマーカー遺伝子である (Juliano et al., 2010)。この事実は、生殖系列において生殖系列特異的な遺伝子の発現を促進する *ovo* 遺伝子の機能が、進化的に保存されている可能性を示している。実際に、「後成的」様式により始原生殖細胞を形成する代表的な動物であるマウスにおいても、*ovo* 遺伝子のオルソログである *Ovo-like 1 (Ovol1)*、*Ovo-like 2 (Ovol2)*、*Ovo-like 3 (Ovol3)* のうち (Unzaki et al., 2004; Unzaki et al., 2007)、*Ovol1* と *Ovol2* が始原生殖細胞に発現することが明らかにされている (阿部 未発表)。このうち、*Ovol1* の機能を欠いたマウスでは、メスにおいては泌尿生殖器の形態異常により妊性が低下するものの、生殖系列における異常は報告されていない (Li et al., 2005)。また、オスにおいては生殖細胞の減数分裂期に異常が観察されるものの (Dai et al., 1998; Li et al., 2005)、始原生殖細胞への影響は報告されていない。したがって、*Ovol1* はオス、メス共に始原生殖細胞の初期発生過程に重要な機能は持っていないと考えられる。一方、*Ovol2* の機能を欠いたマウス胚では、始原生殖細胞が形成されたのち、生殖巣への移動中に始原生殖細胞の数が減少する (阿部 未発表)。このマウス胚におけ

る *Ovol2* ノックアウトの表現型は、ショウジョウバエ *Ovo-B* の機能阻害による表現型と類似しており、このことは生殖系列における *ovo* 遺伝子の機能が進化的に保存されている可能性を強く示唆している。今後、マウス始原生殖細胞において *ovo* オルソログ遺伝子により制御される遺伝子を同定し、ショウジョウバエ *Ovo-B* 下流遺伝子と比較することにより、*ovo* 遺伝子の機能の進化的な保存性をより明確にすることができると考えている。

これまでに、マウスの始原生殖細胞の分化には、Wnt シグナルおよび BMP シグナルが必須であることが報告されている (Cantú and Laird, 2013)。Wnt シグナルは、胚性幹細胞 (ESCs) および結腸直腸ガン細胞 (CRC) において、*Ovol2* の発現を誘導する (Ye et al., 2016; Zhang et al., 2013)。また、BMP シグナルは ESCs において *Ovol2* の発現を促進し、神経外胚葉と中内胚葉の発生を制御する (Zhang et al., 2013)。一方、Wnt シグナルおよび BMP シグナル下流の転写制御因子である *PR domain containing 14 (Prdm14)*、*PR domain containing 1 (Prdm1 / Blimp1)*、Transcription factor AP-2 gamma (AP2 γ) は in vitro 培養系においてマウス Epiblast-like cell (EpiLC) から PGC-like cell (PGCLC) に分化させることが報告されており、始原生殖細胞の分化を促進する重要な因子として同定されている (Aramaki et al., 2013; Kurimoto et al., 2008; Ohinata et al., 2005)。これらの事実は、マウスにおいて *Ovol2* が Wnt シグナルおよび BMP シグナル下流で働く転写制御因子とともに、始原生殖細胞の発生を促進している可能性を示唆している。

マウスの生殖系列の分化に必要な BMP シグナルは、ショウジョウバエにおいても生殖系列の分化に関わることが明らかにされている。初期の始原生殖細胞

においては、BMP シグナルが活性化しており、異所的に BMP シグナルのリガンドを発現させて BMP シグナルを攪乱した胚においては、始原生殖細胞の数が減少する (Deshpande et al., 2014)。同じく、マウスの生殖系列の分化に必要な Wnt シグナルは、ショウジョウバエ始原生殖細胞における詳細な解析はされていないものの、胚発生後期の生殖巣を構成する体細胞において、Wnt シグナルのリガンドである Wnt2 が発現している (DeFalco et al., 2003)。さらに、本研究では、Wnt シグナル下流で働く *ebd1* の機能が生殖系列の発生に必要であること(図 10) を示唆する結果を得ている。以上のことから、生殖系列の発生制御機構に、*ovo* 遺伝子、BMP シグナルおよび Wnt シグナルが関わっていることは、マウスとショウジョウバエの両者に共通する特徴であると予想している。

本研究では、母性 *Ovo-B* の機能阻害では発現が変化しなかった生殖系列特異的な遺伝子も多く見られた。このことは、母性 *Ovo-B* の他にも生殖系列特異的な遺伝子の発現を活性化する母性因子が存在することを示唆している。マウスにおいて *Blimp1*、*Prdm14*、Transcription factor AP-2 gamma (*AP2 γ*) が協調して始原生殖細胞の分化を促進することが示されているように (Nakaki et al., 2013)、ショウジョウバエにおいても母性 *Ovo* と協調して生殖細胞の分化に働く因子が存在するのではないだろうか。今後、ショウジョウバエにおいて生殖系列特異的な遺伝子を活性化するメカニズムを解明し、進化的な保存性について議論を進めるためには、*ovo* を含めた活性化因子の働きを明らかにしていく必要がある。

VI 謝辞

本研究を進めるにあたり、懇切丁寧なご指導を賜り、論文校閲に多大なる尽力を惜しまれなかった小林悟教授（筑波大学）に心より御礼申し上げます。また、終始細やかなご指導をいただきました、林良樹先生（筑波大学）、林誠先生（筑波大学）、佐藤昌直先生（北海道大学）に深く感謝致します。また、CRISPR による EGFP ノックイン系統の作成に関しては熊本大学の中村輝教授に丁寧なご指導を賜りました。ここに感謝の意を表します。日頃、有益な検討くださり、また励まし、あたたかく見守ってくださった小林研究室の皆様に感謝致します。ありがとうございました。

VII 参考文献

- Andrews, J., Garcia-Estefania, D., Delon, I., Lü, J., Mével-Ninio, M., Spierer, A., Payre, F., Pauli, D. and Oliver, B.** (2000). OVO transcription factors function antagonistically in the *Drosophila* female germline. *Development* **127**, 881–892.
- Aramaki, S., Hayashi, K., Kurimoto, K., Ohta, H., Yabuta, Y., Iwanari, H., Mochizuki, Y., Hamakubo, T., Kato, Y., Shirahige, K., et al.** (2013). A mesodermal factor, T, specifies mouse germ cell fate by directly activating germline determinants. *Dev. Cell* **27**, 516–529.
- Aravin, A. Hannon, G. J. and Brennecke, J.** (2007). The Piwi-piRNA Pathway Provides an Adaptive Defense in the Transposon Arms Race. *Science*. **318**, 761–764.
- Asaoka-Taguchi, M., Yamada, M., Nakamura, A, Hanyu, K. and Kobayashi, S.** (1999). Maternal Pumilio acts together with Nanos in germline development in *Drosophila* embryos. *Nat. Cell Biol.* **1**, 431–437.
- Bashirullah.A., Halsell.S., Cooperstock.R., Kloc.M., Karaiskakis.A., Fisher.W., Fu.W., Hamilton.J., Etkin.L. and Lipshitz.H.** (1999). Joint action of two RNA degradation pathways controls the timing of maternal transcript elimination at the midblastula transition in *Drosophila melanogaster*. *The EMBO Journal* **18-9** 2610–2620.
- Benchabane, H., Xin, N., Tian, A., Hafler, B. P., Nguyen, K., Ahmed, A. and Ahmed, Y.** (2011). Jerky/Earthbound facilitates cell-specific Wnt/Wingless

- signalling by modulating β -catenin-TCF activity. *EMBO J.* **30**, 1444–1458.
- Bielinska, B., Lü, J., Sturgill, D. and Oliver, B.** (2005). Core promoter sequences contribute to *ovo-B* regulation in the *Drosophila melanogaster* germline. *Genetics* **169**, 161–172.
- Brower-Toland, B., Findley, S. D., Jiang, L., Liu, L., Yin, H., Dus, M., Zhou, P., Elgin, S. C. R. and Lin, H.** (2007). *Drosophila* PIWI associates with chromatin and interacts directly with HP1a. *Genes Dev.* **21**, 2300–2311.
- Cantú, A. V and Laird, D. J.** (2013). Wnt and Bmp fit germ cells to a T. *Dev. Cell* **27**, 485–7.
- Christerson, L. B. and McKearin, D. M.** (1994). *orb* Is required for anteroposterior and dorsoventral patterning during *Drosophila* oogenesis. *Genes Dev.* **8**, 614–628.
- Dai, X., Schonbaum, C., Degenstein, L., Bai, W., Mahowald, A. and Fuchs, E.** (1998). The *ovo* gene required for cuticle formation and oogenesis in flies is involved in hair formation and spermatogenesis in mice. *Genes Dev.* **12**, 3452–3463.
- DeFalco, T. J., Verney, G., Jenkins, A. B., McCaffery, J. M., Russell, S. and Van Doren, M.** (2003). Sex-specific apoptosis regulates sexual dimorphism in the *Drosophila* embryonic gonad. *Dev. Cell* **5**, 205–216.
- Deshpande, G., Willis, E., Chatterjee, S., Fernandez, R., Dias, K. and Schedl, P.** (2014). BMP signaling and the maintenance of primordial germ cell identity in drosophila embryos. *PLoS One* **9**,.
- Engels.W. and Preston.C.** (1978). Hybrid dysgenesis in *drosophila melanogaster*: the

biology of female and male sterility. *Genetics* **92** 161-174.

Extavour, C. G. and Akam, M. (2003). Mechanisms of germ cell specification across the metazoans: epigenesis and preformation. *Development* **130**, 5869–5884.

Fang.X., Chen.T., Tran.K. and Parker. S. (2001). Developmental regulation of the heat shock response by nuclear transport factor karyopherin- $\alpha 3$. *Development* **128** 3349-3358.

Gentleman R., Carey V., Huber W. and Irizarry R. (2005). Bioinformatics and computational biology solutions using r and bioconductor.

Gratz, S. J., Ukken, F. P., Rubinstein, C. D., Thiede, G., Donohue, L. K.,

Cummings, A. M. and Oconnor-Giles, K. M. (2014). Highly specific and efficient CRISPR/Cas9-catalyzed homology-directed repair in *Drosophila*. *Genetics* **196**, 961–971.

Grivna, S. T., Pyhtila, B. and Lin, H. (2006). MIWI associates with translational machinery and PIWI-interacting RNAs (piRNAs) in regulating spermatogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **103**, 13415–13420.

Hanyu-Nakamura K., Sonobe-Nojima H., Tanigawa A., Lasko P. and Nakamura A. (2009). *Drosophila* Pgc protein inhibits P-TEFb recruitment to chromatin in primordial germ cells. *Nature* **451**, 730–733.

Hayashi, Y., Hayashi, M. and Kobayashi, S. (2004). Nanos suppresses somatic cell fate in *Drosophila* germ line. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 10338–10342.

Herold, N., Will, C. L., Wolf, E., Kastner, B., Urlaub, H. and Lührmann, R. (2009). Conservation of the protein composition and electron microscopy structure of

- Drosophila melanogaster* and human spliceosomal complexes. *Mol. Cell. Biol.* **29**, 281–301.
- Illmensee, K. and Mahowald, A. P.** (1974). Transplantation of posterior polar plasm in *Drosophila* Induction of germ cells at the anterior pole of the egg. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **71**, 1016–1020.
- Johnson, A. N., Mokalled, M. H., Valera, J. M., Poss, K. D. and Olson, E. N.** (2013). Post-transcriptional regulation of myotube elongation and myogenesis by Hoi Polloi. *Development* **140**, 3645–56.
- Juliano, C. E., Swartz, S. Z. and Wessel, G. M.** (2010). A conserved germline multipotency program. *Development* **137**, 4113–4126.
- Kadyrova, L. Y., Habara, Y., Lee, T. H. and Wharton, R. P.** (2007). Translational control of maternal *Cyclin B* mRNA by Nanos in the *Drosophila* germline. *Development* **134**, 1519–1527.
- Kalmykova, A. I.** (2005). Argonaute protein PIWI controls mobilization of retrotransposons in the *Drosophila* male germline. *Nucleic Acids Res.* **33**, 2052–2059.
- Kearse, M. G., Chen, A. S. and Ware, V. C.** (2011). Expression of ribosomal protein L22e family members in *Drosophila melanogaster*: *RpL22-like* is differentially expressed and alternatively spliced. *Nucleic Acids Res.* **39**, 2701–2716.
- Klenov, M. S., Sokolova, O. a, Yakushev, E. Y., Stolyarenko, A. D., Mikhaleva, E. A, Lavrov, S. A and Gvozdev, V. A** (2011). Separation of stem cell maintenance and transposon silencing functions of Piwi protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*

108, 18760–5.

Kondo, S. and Ueda, R. (2013). Highly Improved gene targeting by germline-specific Cas9 expression in *Drosophila*. *Genetics* **195**, 715–721.

Kurimoto, K., Yabuta, Y., Ohinata, Y., Shigeta, M., Yamanaka, K. and Saitou, M. (2008). Complex genome-wide transcription dynamics orchestrated by Blimp1 for the specification of the germ cell lineage in mice. *Genes Dev.* **22**, 1617–1635.

Le, T., Liang, Z., Patel, H., Yu, M. H., Sivasubramaniam, G., Slovitt, M., Tanentzapf, G., Mohanty, N., Paul, S. M., Wu, V. M., et al. (2006). A new family of *Drosophila* balancer chromosomes with a *w-dfd*-GMR yellow fluorescent protein marker. *Genetics* **174**, 2255–2257.

Lee, S. and Garfinkel, M. D. (2000). Characterization of *Drosophila* OVO protein DNA binding specificity using random DNA oligomer selection suggests zinc finger degeneration. *Nucleic Acids Res.* **28**, 826–834.

Li, B., Nair, M., Mackay, D. R., Bilanchone, V., Hu, M., Fallahi, M., Song, H., Dai, Q., Cohen, P. E. and Dai, X. (2005). *Ovoll* regulates meiotic pachytene progression during spermatogenesis by repressing Id2 expression. *Development* **132**, 1463–1473.

Mével-Ninio, M., Terracol, R. and Kafatos, F. C. (1991). The *ovo* gene of *Drosophila* encodes a zinc finger protein required for female germ line development. *EMBO J.* **10**, 2259–2266.

Mével-Ninio, M., Terracol, R., Salles, C., Vincent, A. and Payre, F. (1995). *ovo*, a *Drosophila* gene required for ovarian development, is specifically expressed in the

- germline and shares most of its coding sequences with *shavenbaby*, a gene involved in embryo patterning. *Mech. Dev.* **49**, 83–95.
- Nakaki, F., Hayashi, K., Ohta, H., Kurimoto, K., Yabuta, Y. and Saitou, M.** (2013). Induction of mouse germ-cell fate by transcription factors *in vitro*. *Nature* **501**, 222–6.
- Ohinata, Y., Payer, B., O’Carroll, D., Ancelin, K., Ono, Y., Sano, M., Barton, S. C., Obukhanych, T., Nussenzweig, M., Tarakhovsky, A., et al.** (2005). Blimp1 is a critical determinant of the germ cell lineage in mice. *Nature* **436**, 207–213.
- Oliver, B., Perrimon, N. and Mahowald, A. P.** (1987). The *ovo* locus is required for sex-specific germ line maintenance in *Drosophila*. *Genes Dev.* **1**, 913–923.
- Patil, V. S. and Kai, T.** (2010). Repression of Retroelements in *Drosophila* Germline via piRNA Pathway by the Tudor Domain Protein Tejas. *Curr. Biol.* **20**, 724–730.
- Pérez-Montero, S., Carbonell, A., Morán, T., Vaquero, A. and Azorín, F.** (2013). The embryonic linker histone H1 variant of *Drosophila*, dBigH1, regulates zygotic genome activation. *Dev. Cell* **26**, 578–590.
- Preisersf, P., Vasishth, V. and Birken, A.** (1993). Poly(U)-binding Protein Inhibits *Drosophila* Pre-5 S RNA 3’-Exonuclease Digestion. *J. Biol. Chem.* **268**, 11553–11557.
- Shigenobu, S., Arita, K., Kitadate, Y., Noda, C. and Kobayashi, S.** (2006a). Isolation of germline cells from *Drosophila* embryos by flow cytometry. *Dev. Growth Differ.* **48**, 49–57.
- Shigenobu, S., Kitadate, Y., Noda, C. and Kobayashi, S.** (2006b). Molecular

characterization of embryonic gonads by gene expression profiling in *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**, 13728–13733.

Sienski, G., Dönertas, D. and Brennecke, J. (2012). Transcriptional silencing of transposons by Piwi and maelstrom and its impact on chromatin state and gene expression. *Cell* **151**, 964–980.

Simmons, M. J., Ryzek, D.-F., Lamour, C., Goodman, J. W., Kummer, N. E. and Merriman, P. J. (2007). Cytotype regulation by telomeric P elements in *Drosophila melanogaster*: evidence for involvement of an RNA interference gene. *Genetics* **176**, 1945–55.

Song, X., Zhu, C.-H., Doan, C. and Xie, T. (2002). Germline stem cells anchored by adherens junctions in the *Drosophila* ovary niches. *Science* **296**, 1855–1857.

Storey, J. D. and Tibshirani, R. (2003). Statistical significance for genomewide studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **100**, 9440–9445.

Tanaka, Y., Tachiwana, H., Yoda, K., Masumoto, H., Okazaki, T., Kurumizaka, H. and Yokoyama, S. (2005). Human centromere protein B induces translational positioning of nucleosomes on alpha-satellite sequences. *J. Biol. Chem.* **280**, 41609–41618.

Tiefenböck, S. K., Baltzer, C., Egli, N. a and Frei, C. (2010). The *Drosophila* PGC-1 homologue Spargel coordinates mitochondrial activity to insulin signalling. *EMBO J.* **29**, 171–183.

Unezaki, S., Nishizawa, M., Okuda-Ashitaka, E., Masu, Y., Mukai, M., Kobayashi, S., Sawamoto, K., Okano, H. and Ito, S. (2004). Characterization of the isoforms

- of MOVO zinc finger protein, a mouse homologue of *Drosophila* Ovo, as transcription factors. *Gene* **336**, 47–58.
- Unezaki, S., Horai, R., Sudo, K., Iwakura, Y. and Ito, S.** (2007). *Ovol2/Movo*, a homologue of *Drosophila ovo*, is required for angiogenesis, heart formation and placental development in mice. *Genes to Cells* **12**, 773–785.
- Van Doren, M., Williamson, A. L. and Lehmann, R.** (1998). Regulation of zygotic gene expression in *Drosophila* primordial germ cells. *Curr. Biol.* **8**, 243–246.
- Voog, J., Sandall, S. L., Hime, G. R., Resende, L. P. F., Loza-Coll, M., Aslanian, A., Yates, J. R., Hunter, T., Fuller, M. T. and Jones, D. L.** (2014). Escargot Restricts Niche Cell to Stem Cell Conversion in the *Drosophila* Testis. *Cell Rep.* **7**, 722–734.
- Yamashita, Y. M.** (2003). Orientation of Asymmetric Stem Cell Division by the APC Tumor Suppressor and Centrosome. *Science* **301**, 1547–1550.
- Yatsu, J., Hayashi, M., Mukai, M., Arita, K., Shigenobu, S. and Kobayashi, S.** (2008). Maternal RNAs encoding transcription factors for germline-specific gene expression in *Drosophila* embryos. *Int. J. Dev. Biol.* **52**, 913–923.
- Ye, G.-D., Sun, G.-B., Jiao, P., Chen, C., Liu, Q.-F., Huang, X.-L., Zhang, R., Cai, W.-Y., Li, S.-N., Wu, J.-F., et al.** (2016). OVOL2, an Inhibitor of WNT Signaling, Reduces Invasive Activities of Human and Mouse Cancer Cells and Is Down-regulated in Human Colorectal Tumors. *Gastroenterology* **150**, 659–671.e16.
- Zhang, T., Zhu, Q., Xie, Z., Chen, Y., Qiao, Y., Li, L. and Jing, N.** (2013). The zinc

finger transcription factor *Ovol2* acts downstream of the bone morphogenetic protein pathway to regulate the cell fate decision between neuroectoderm and mesendoderm. *J. Biol. Chem.* **288**, 6166–6177.

小林悟 (1990a). ショウジョウバエ卵細胞へのマイクロインジェクション(1).
Cell Science **6**, 254-257

小林悟 (1990b). ショウジョウバエ卵細胞へのマイクロインジェクション(2).
Cell Science **6**, 332-335

小林悟 (1990c). ショウジョウバエ卵細胞へのマイクロインジェクション(3).
Cell Science **6**, 413-416

林誠 (2008). ショウジョウバエ初期胚発生における左右対称性および生殖細胞決定機構の解析. 学位論文

Ⅷ 図表

表 1 EGFP knock-in 系統の作成に使用した系統

系統名 ^a	遺伝子型
TBX0002	$y^1 v^1 P\{nos-phiC31 \setminus int.NLS\}X; attP40 (II)$
TBX0003	$y^2 cho^2 v^1 P\{nos-phiC31 \setminus int.NLS\}X; attP2 (III)$
TBX0007	$y^2 cho^2 v^1; Sco / CyO$
TBX0010	$y^2 cho^2 v^1; Pr Dr / TM6C, Sb Tb$
CAS0004	$y^2 cho^2 v^1; Sp / CyO, P\{nos-Cas9, y^+, v^+\}2A$

a これらの系統は NIG より分譲された。

表 2 sgRNA コンストラクトの作成に使用したオリゴマー

オリゴマー名称	配列 (5'-3') ^a
ovoA-egfp-sgRNA-Fw	<u>CTTCT</u> CGTAAGAATATCCGAGAGA
ovoA-egfp-sgRNA-Rv	AA <u>ACTCT</u> CTCGGATATTCTTACGA
ovoB-egfp-sgRNA-Fw	<u>CTTCG</u> GTATGGGCGGTGGTCGCGA
ovoB-egfp-sgRNA-Rv	AA <u>ACTCG</u> CGACCACCGCCCATACC

a 配列中のアンダーラインは pBFv-U6.2 ベクターを制限酵素 *Bbs I* で切断後の突出末端と相補的な配列を示す。

表 3 EGFP KI コンストラクトの作成に使用したプライマー

プライマー名称	配列 (5' -3') ^{a, b, c}
ovoA-up1kb-Fw	<u>GGGAACAAAAGCTGGTGTGTGCTGGTGTAAATTACAAACATTTTAC</u>
ovoA-up1kb-Rv	<u>GCCCTTGCTCACCATTTGCTGAGCGAACGGATTG</u> GACGAGCTGTACAAGATGAACGTCAACAAAAATGATCTTCGCAAGAA C ATCCG C GAG C G C GC G CTTTCAGCTTT
ovoA-dwn1kb-Fw	<u>GGTTTGAAAAC</u>
ovoA-dwn1kb-Rv	<u>TATAGGGCGAATTGGTGGGGATACTCCTTGCGTTGG</u>
ovoB-up1kb-Fw	<u>GGGAACAAAAGCTGGCAGAGCCGCCACCTCCG</u>
ovoB-up1kb-Rv	<u>GCCCTTGCTCACCATACCACCACCGCCACCG</u>
ovoB-dwn1kb-Fw	<u>GACGAGCTGTACAAGATGGGCGGCGGCGCGATGGCCGAGGGAACTACGGAC</u>
ovoB-dwn1kb-Rv	<u>TATAGGGCGAATTGGGCTGCTGCTGCTGATTGCTG</u>
pEGFP-N1-Fw	<u>ATGGTGAGCAAGGGCGAGG</u>
pEGFP-N1-Rv	<u>CTTGACAGCTCGTCCATGCCG</u>
pBlue-Fw	<u>CCAGCTTTTGTTCCTTTAGTGAGG</u>
pBlue-Rv	<u>CCAATTCGCCCTATAGTGAGTCGT</u>

a 配列中のアンダーラインはギブソンアッセムブリに使用する隣接断片の末端部分と相補的な配列を示す。

b 配列中の赤字はサイレント変異（アミノ酸配列は変えない塩基配列変異）を導入するために置換した塩基を示す。

c PCR の際にテンプレートにアニーリングする配列をイタリックで示す。

表 4 生殖系列において機能阻害実験をおこなった母性 Ovo-B 下流遺伝子

遺伝子名	ストックセンター	系統番号 ^a
<i>BigH1</i>	VDRC	100451
<i>BigH1</i>	VDRC	26213
<i>BigH1</i>	BL	34548
<i>BigH1</i>	BL	38211
<i>CG11638</i>	VDRC	29889
<i>CG11638</i>	VDRC	31543
<i>CG11638</i>	VDRC	29890
<i>CG12477</i>	VDRC	31944
<i>CG12477</i>	VDRC	102882
<i>CG12744</i>	VDRC	38672
<i>CG12744</i>	VDRC	105845
<i>CG17801</i>	VDRC	29502
<i>CG17801</i>	VDRC	29501
<i>CG3838</i>	BL	36785
<i>CG9650</i>	VDRC	1004402
<i>CG9650</i>	BL	40852
<i>ebd1</i>	BL	35765
<i>ebd1</i>	BL	28296
<i>esg</i>	BL	42846
<i>esg</i>	BL	34063
<i>Ets98B</i>	VDRC	10792
<i>Ets98B</i>	VDRC	10932
<i>hoip</i>	VDRC	21752
<i>hoip</i>	VDRC	106496
<i>hoip</i>	VDRC	21755
<i>La</i>	BL	42789
<i>orb</i>	BL	43143
<i>orb</i>	BL	25843
<i>piwi</i>	BL	33724
<i>RpL22-like</i>	BL	42773
<i>srl</i>	BL	33914
<i>srl</i>	BL	33915

a 各系統は VDRC または Bloomington (BL) ストックセンターから取り寄せた。そのストックナンバーを示す。

表 5 母性 Ovo-B により転写が促進される下流遺伝子

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)	FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0040923	<i>CG11368</i>	5.895	1.552	4.342	FBgn0002652	<i>squ</i>	11.131	9.163	1.968
FBgn0005390	<i>fs(1)M3</i>	5.770	1.650	4.120	FBgn0016650	<i>Lgr1</i>	5.142	3.187	1.955
FBgn0039552	<i>CG12426</i>	6.206	2.416	3.790	FBgn0001208	<i>Hn</i>	8.058	6.123	1.935
FBgn0052726	<i>CG32726</i>	8.166	4.564	3.602	FBgn0028979	<i>tio</i>	5.305	3.382	1.923
FBgn0036153	<i>CG7573</i>	5.439	1.847	3.592	FBgn0020377	<i>Sr-CII</i>	8.215	6.298	1.918
FBgn0033236	<i>CG14764</i>	7.343	3.773	3.571	FBgn0052365	<i>CG32365</i>	10.460	8.569	1.892
FBgn0262968	<i>CR43279</i>	8.423	4.934	3.489	FBgn0035802	<i>CG33275</i>	7.943	6.059	1.884
FBgn0039234	<i>Nct</i>	4.288	0.994	3.294	FBgn0010097	<i>gammaTub37C</i>	7.892	6.045	1.848
FBgn0039551	<i>Or98a</i>	5.011	1.757	3.255	FBgn0001311	<i>kkv</i>	10.345	8.530	1.814
FBgn0085382	<i>CG34353</i>	10.484	7.307	3.177	FBgn0036428	<i>Gbs-70E</i>	7.497	5.690	1.807
FBgn0029950	<i>CG9657</i>	8.442	5.444	2.998	FBgn0029740	<i>CG12680</i>	9.791	7.998	1.793
FBgn0052719	<i>CG32719</i>	7.616	4.652	2.965	FBgn0015033	<i>Cyp4d8</i>	4.246	2.456	1.790
FBgn0040367	<i>CG11382</i>	8.067	5.310	2.757	FBgn0259834	<i>out</i>	6.415	4.642	1.773
FBgn0039640	<i>CG14516</i>	10.049	7.331	2.718	FBgn0036224	<i>Rpt4R</i>	11.033	9.266	1.768
FBgn0038252	<i>BigH1</i>	8.757	6.061	2.697	FBgn0035799	<i>CG14838</i>	6.801	5.039	1.762
FBgn0040922	<i>CG15036</i>	8.677	5.997	2.680	FBgn0260388	<i>CG42514</i>	7.286	5.526	1.760
FBgn0034480	<i>CG16898</i>	4.900	2.265	2.635	FBgn0029948	<i>CheA7a</i>	5.710	3.951	1.759
FBgn0085366	<i>CG34337</i>	7.209	4.598	2.611	FBgn0028645	<i>beat-Ib</i>	5.361	3.619	1.743
FBgn0037153	<i>olf413</i>	9.933	7.363	2.570	FBgn0029952	<i>CG12689</i>	6.464	4.739	1.725
FBgn0035800	<i>CG7716</i>	6.820	4.260	2.560	FBgn0000635	<i>Fas2</i>	10.884	9.179	1.705
FBgn0030223	<i>CG2111</i>	6.355	3.801	2.554	FBgn0020269	<i>mspo</i>	5.909	4.206	1.703
FBgn0263456	<i>Nwk</i>	6.922	4.380	2.541	FBgn0033459	<i>CG12744</i>	11.417	9.727	1.690
FBgn0261788	<i>Ank2</i>	6.971	4.489	2.481	FBgn0037069	<i>Cpr78Cc</i>	3.660	1.977	1.682
FBgn0001142	<i>Gsl</i>	11.607	9.141	2.467	FBgn0032886	<i>CG9328</i>	9.096	7.417	1.679
FBgn0031645	<i>CG3036</i>	10.800	8.349	2.451	FBgn0015571	<i>alpha-Est3</i>	9.334	7.666	1.668
FBgn0031148	<i>Cbs</i>	9.266	6.833	2.433	FBgn0000109	<i>Aprt</i>	8.756	7.088	1.667
FBgn0052061	<i>CG32061</i>	3.964	1.543	2.421	FBgn0038149	<i>GILT1</i>	10.869	9.203	1.666
FBgn0004198	<i>Ct</i>	8.635	6.220	2.415	FBgn0259994	<i>CG42492</i>	8.644	6.980	1.664
FBgn0259150	<i>CG42265</i>	7.755	5.405	2.351	FBgn0005659	<i>Ets98B</i>	7.152	5.498	1.654
FBgn0036222	<i>SdhAL</i>	3.807	1.511	2.296	FBgn0263397	<i>Ih</i>	8.613	6.975	1.637
FBgn0036935	<i>CG14186</i>	6.632	4.361	2.270	FBgn0027552	<i>CG10863</i>	9.882	8.245	1.636
FBgn0086355	<i>Tpi</i>	7.263	5.027	2.236	FBgn0052677	<i>X11Lbeta</i>	10.216	8.583	1.633
FBgn0051472	<i>Sgll</i>	9.113	6.878	2.235	FBgn0030598	<i>CG9503</i>	8.683	7.051	1.632
FBgn0023129	<i>Aay</i>	9.690	7.459	2.231	FBgn0051262	<i>CG31262</i>	3.830	2.201	1.629
FBgn0035815	<i>Snmp2</i>	5.104	2.881	2.223	FBgn0001120	<i>gnu</i>	8.214	6.589	1.625
FBgn0004795	<i>retn</i>	9.417	7.243	2.174	FBgn0034021	<i>CG8180</i>	5.236	3.616	1.620
FBgn0035782	<i>CG14835</i>	3.499	1.328	2.171	FBgn0040351	<i>CG11638</i>	10.343	8.723	1.620
FBgn0010620	<i>CG10939</i>	9.202	7.031	2.171	FBgn0029834	<i>CG5937</i>	8.286	6.668	1.618
FBgn0265265	<i>CG32727</i>	8.813	6.648	2.165	FBgn0034142	<i>CG8306</i>	7.612	6.000	1.611
FBgn0035798	<i>frac</i>	4.392	2.161	2.161	FBgn0046685	<i>WscK</i>	8.093	6.488	1.605
FBgn0051145	<i>CG31145</i>	5.093	2.934	2.158	FBgn0036787	<i>CG4306</i>	8.318	6.731	1.588
FBgn0032330	<i>Samuel</i>	5.329	3.213	2.117	FBgn0052600	<i>dpr8</i>	9.973	8.393	1.580
FBgn0029939	<i>CG9650</i>	7.496	5.389	2.107	FBgn0040805	<i>CG12355</i>	8.427	6.863	1.564
FBgn0036461	<i>Zip71B</i>	7.682	5.601	2.081	FBgn0037076	<i>ebd2</i>	8.555	6.996	1.558
FBgn0015569	<i>alpha-Est10</i>	9.314	7.245	2.069	FBgn0031419	<i>CG15390</i>	9.881	8.323	1.558
FBgn0035806	<i>PGRP-SD</i>	7.334	5.265	2.069	FBgn0050089	<i>CG30089</i>	6.977	5.424	1.553
FBgn0034075	<i>Asph</i>	10.615	8.548	2.068	FBgn0030033	<i>CG1387</i>	7.803	6.251	1.552
FBgn0033708	<i>CG8850</i>	4.355	2.293	2.062	FBgn0033980	<i>Cyp6a20</i>	6.963	5.429	1.535
FBgn0261987	<i>Pxt</i>	11.755	9.715	2.039	FBgn0035321	<i>CG1275</i>	7.426	5.894	1.532
FBgn0004649	<i>yl</i>	9.095	7.100	1.995	FBgn0000719	<i>fog</i>	8.243	6.713	1.530

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0061196	<i>CG15468</i>	6.722	5.200	1.523
FBgn0259823	<i>CG42404</i>	7.798	6.283	1.515
FBgn0000137	<i>ase</i>	6.770	5.258	1.512
FBgn0052369	<i>CG32369</i>	4.567	3.055	1.512
FBgn0069973	<i>CG40485</i>	3.844	2.335	1.508
FBgn0053181	<i>CG33181</i>	9.859	8.365	1.493
FBgn0032130	<i>CG3838</i>	7.909	6.418	1.491
FBgn0032551	<i>CG18636</i>	2.889	1.410	1.480
FBgn0045064	<i>bwa</i>	9.117	7.640	1.478
FBgn0052318	<i>CG32318</i>	12.264	10.789	1.475
FBgn0039734	<i>Tace</i>	8.160	6.697	1.462
FBgn0032946	<i>nrv3</i>	9.458	8.005	1.453
FBgn0035817	<i>CG7409</i>	5.907	4.461	1.446
FBgn0261551	<i>CG45186</i>	8.165	6.735	1.430
FBgn0039530	<i>Tusp</i>	8.927	7.505	1.422
FBgn0034335	<i>GstE1</i>	9.161	7.749	1.412
FBgn0260632	<i>dl</i>	8.510	7.099	1.411
FBgn0041103	<i>nht</i>	8.868	7.459	1.410
FBgn0004882	<i>orb</i>	10.763	9.358	1.405
FBgn0040060	<i>yip7</i>	5.813	4.412	1.401
FBgn0032801	<i>CG10165</i>	8.893	7.496	1.397
FBgn0025360	<i>Optix</i>	3.723	2.327	1.396
FBgn0023095	<i>caps</i>	5.527	4.131	1.396
FBgn0033557	<i>CG12325</i>	8.482	7.094	1.394
FBgn0015035	<i>Cyp4e3</i>	5.102	3.712	1.390
FBgn0011822	<i>pcl</i>	8.034	6.650	1.384
FBgn0039093	<i>CG10183</i>	3.100	1.726	1.374
FBgn0030224	<i>CG12637</i>	7.440	6.067	1.373
FBgn0086901	<i>cv-c</i>	6.270	4.901	1.369
FBgn0029975	<i>CG1444</i>	13.018	11.652	1.366
FBgn0037178	<i>CG12546</i>	3.288	1.928	1.360
FBgn0029801	<i>CG15771</i>	9.253	7.897	1.356
FBgn0033598	<i>Cpr47Eb</i>	2.947	1.592	1.355
FBgn0041607	<i>AsnS</i>	7.009	5.659	1.350
FBgn0011554	<i>etaTry</i>	2.663	1.317	1.346
FBgn0026147	<i>CG16833</i>	7.491	6.150	1.341
FBgn0029946	<i>CG15034</i>	8.741	7.401	1.341
FBgn0051313	<i>CG31313</i>	7.813	6.475	1.338
FBgn0030100	<i>CG12106</i>	6.805	5.469	1.335
FBgn0035153	<i>ebd1</i>	9.932	8.604	1.328
FBgn0029761	<i>SK</i>	6.315	4.989	1.325
FBgn0038539	<i>Atg8b</i>	6.969	5.656	1.313
FBgn0053477	<i>CG33477</i>	8.657	7.349	1.308
FBgn0051807	<i>CG31807</i>	7.046	5.746	1.299
FBgn0050497	<i>CG30497</i>	9.608	8.310	1.298
FBgn0002567	<i>ld</i>	10.600	9.304	1.296
FBgn0031324	<i>CG14342</i>	2.873	1.583	1.290
FBgn0000253	<i>Cam</i>	12.150	10.867	1.283
FBgn0260386	<i>mtg</i>	9.652	8.371	1.281
FBgn0036225	<i>CG5883</i>	2.783	1.507	1.276

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0051098	<i>CG31098</i>	5.492	4.219	1.273
FBgn0016131	<i>Cdk4</i>	9.800	8.528	1.272
FBgn0263097	<i>Glut4EF</i>	11.043	9.774	1.269
FBgn0031463	<i>G6P</i>	7.290	6.021	1.269
FBgn0051975	<i>CG31975</i>	8.597	7.331	1.266
FBgn0039568	<i>CG4815</i>	2.786	1.523	1.263
FBgn0034761	<i>CG4250</i>	5.190	3.936	1.254
FBgn0029949	<i>CG15035</i>	7.043	5.797	1.246
FBgn0032648	<i>CG15144</i>	6.040	4.797	1.243
FBgn0032740	<i>CG15172</i>	11.230	9.992	1.238
FBgn0034988	<i>cN-IIIIB</i>	8.511	7.277	1.234
FBgn0003462	<i>Sod</i>	12.945	11.721	1.224
FBgn0053349	<i>ppk25</i>	7.830	6.608	1.223
FBgn0030174	<i>CG15312</i>	7.984	6.766	1.219
FBgn0051473	<i>CG31473</i>	7.116	5.900	1.216
FBgn0053665	<i>CG33665</i>	6.800	5.585	1.215
FBgn0030304	<i>Cyp4g15</i>	3.917	2.702	1.215
FBgn0014466	<i>Cp7Fc</i>	9.994	8.780	1.214
FBgn0038723	<i>CG6195</i>	11.149	9.936	1.213
FBgn0035797	<i>CG14837</i>	7.876	6.665	1.211
FBgn0052373	<i>CG32373</i>	8.198	6.988	1.210
FBgn0029940	<i>CG1958</i>	10.122	8.914	1.208
FBgn0036325	<i>CG10752</i>	2.229	1.021	1.208
FBgn0035336	<i>CG9004</i>	7.088	5.883	1.205
FBgn0033558	<i>CG12344</i>	10.330	9.132	1.198
FBgn0011704	<i>RnrS</i>	11.576	10.383	1.193
FBgn0036959	<i>CG6951</i>	6.764	5.572	1.191
FBgn0035086	<i>CG12851</i>	9.365	8.175	1.190
FBgn0033921	<i>tej</i>	11.844	10.655	1.189
FBgn0040096	<i>lectin-33A</i>	7.119	5.930	1.188
FBgn0000146	<i>aub</i>	10.778	9.592	1.186
FBgn0031530	<i>pgant2</i>	7.147	5.963	1.184
FBgn0033374	<i>CG13741</i>	10.686	9.505	1.182
FBgn0259697	<i>nvd</i>	4.584	3.406	1.178
FBgn0034406	<i>Jheh3</i>	7.449	6.275	1.174
FBgn0086711	<i>mol</i>	6.781	5.608	1.173
FBgn0022770	<i>Peritrophin-A</i>	8.270	7.100	1.170
FBgn0040392	<i>CG14050</i>	9.381	8.218	1.163
FBgn0038697	<i>CG3581</i>	7.423	6.267	1.156
FBgn0032603	<i>CG17928</i>	8.203	7.049	1.155
FBgn0022359	<i>Sodh-2</i>	9.976	8.821	1.154
FBgn0016976	<i>stnA</i>	4.643	3.491	1.152
FBgn0262513	<i>Vha16-4</i>	6.456	5.312	1.144
FBgn0053552	<i>CG33552</i>	8.462	7.323	1.140
FBgn0039529	<i>CG5612</i>	6.561	5.423	1.139
FBgn0003089	<i>pip</i>	4.825	3.687	1.138
FBgn0000566	<i>Eip55E</i>	10.749	9.621	1.128
FBgn0038630	<i>CG14305</i>	6.742	5.615	1.126
FBgn0000633	<i>fas</i>	7.650	6.529	1.121
FBgn0051086	<i>CG31086</i>	7.462	6.341	1.121

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0031866	<i>Nlg2</i>	6.576	5.461	1.115
FBgn0013972	<i>Gycalpa99B</i>	4.963	3.850	1.114
FBgn0031418	<i>CG3609</i>	9.765	8.652	1.113
FBgn0027500	<i>spd-2</i>	9.868	8.764	1.104
FBgn0037320	<i>CG14668</i>	6.238	5.139	1.099
FBgn0028670	<i>Vha100-2</i>	9.016	7.918	1.098
FBgn0259714	<i>DIP-epsilon</i>	6.538	5.442	1.096
FBgn0038608	<i>WRNexo</i>	8.787	7.694	1.093
FBgn0034580	<i>Chi8</i>	5.218	4.130	1.088
FBgn0030672	<i>CG9281</i>	12.011	10.925	1.086
FBgn0031629	<i>Clect27</i>	2.828	1.742	1.086
FBgn0032400	<i>CG6770</i>	12.601	11.520	1.080
FBgn0029945	<i>CG18155</i>	11.060	9.980	1.080
FBgn0027885	<i>Aac11</i>	11.059	9.981	1.078
FBgn0032284	<i>CG7294</i>	6.823	5.746	1.078
FBgn0005775	<i>Con</i>	5.886	4.810	1.077
FBgn0033623	<i>CG13202</i>	4.444	3.368	1.076
FBgn0035039	<i>CG3608</i>	9.430	8.355	1.075
FBgn0263143	<i>vret</i>	10.675	9.601	1.074
FBgn0037410	<i>Osi2</i>	2.721	1.651	1.070
FBgn0011581	<i>Ms</i>	4.393	3.323	1.070
FBgn0011762	<i>DNApol-alpha50</i>	8.350	7.281	1.069
FBgn0024366	<i>CG11409</i>	10.037	8.967	1.069
FBgn0039417	<i>CG6073</i>	5.221	4.152	1.069
FBgn0034887	<i>St1</i>	5.071	4.004	1.067
FBgn0031865	<i>Nha1</i>	8.074	7.008	1.066
FBgn0053322	<i>CG33322</i>	6.076	5.019	1.057
FBgn0003278	<i>Rp135</i>	8.504	7.449	1.055
FBgn0050022	<i>CG30022</i>	7.110	6.056	1.054
FBgn0035644	<i>DNApol-epsilon58</i>	8.877	7.824	1.053
FBgn0000490	<i>dpp</i>	4.125	3.076	1.049
FBgn0033648	<i>Ir48b</i>	5.868	4.822	1.046
FBgn0085693	<i>CG41562</i>	6.543	5.500	1.043
FBgn0000392	<i>cup</i>	11.655	10.613	1.042
FBgn0036492	<i>Best3</i>	4.844	3.803	1.041
FBgn0003159	<i>CG2841</i>	9.296	8.256	1.041
FBgn0033912	<i>RpS23</i>	9.008	7.972	1.037
FBgn0086254	<i>CG6084</i>	12.258	11.227	1.031
FBgn0037000	<i>ZnT77C</i>	10.668	9.640	1.028
FBgn0061197	<i>CG13164</i>	3.859	2.832	1.027
FBgn0263512	<i>Vsx2</i>	4.397	3.370	1.027
FBgn0051976	<i>CG31976</i>	7.886	6.862	1.024
FBgn0036551	<i>CG17029</i>	6.577	5.553	1.024
FBgn0015577	<i>alpha-Est9</i>	5.930	4.907	1.022
FBgn0030622	<i>CG9101</i>	2.427	1.409	1.018
FBgn0033504	<i>CAP</i>	10.204	9.189	1.015
FBgn0052521	<i>CG32521</i>	6.794	5.781	1.013
FBgn0040877	<i>CG12994</i>	7.829	6.818	1.012
FBgn0051861	<i>CG31861</i>	4.218	3.208	1.010
FBgn0026869	<i>Thd1</i>	7.553	6.545	1.008

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0017561	<i>Ork1</i>	7.135	6.129	1.006
FBgn0038257	<i>smg-30</i>	4.271	3.265	1.005
FBgn0050184	<i>CG30184</i>	6.374	5.370	1.004
FBgn0034759	<i>CG13511</i>	4.241	3.248	0.993
FBgn0033483	<i>egr</i>	7.988	6.997	0.991
FBgn0028703	<i>Nhe3</i>	9.872	8.884	0.988
FBgn0036181	<i>Muc68Ca</i>	12.659	11.671	0.988
FBgn0040823	<i>dpr6</i>	9.073	8.090	0.983
FBgn0058006	<i>CG40006</i>	8.863	7.880	0.983
FBgn0036226	<i>CG7252</i>	4.362	3.386	0.976
FBgn0052499	<i>Cda4</i>	8.351	7.376	0.975
FBgn0052206	<i>CG32206</i>	4.308	3.337	0.971
FBgn0029702	<i>CG15572</i>	4.091	3.121	0.970
FBgn0053348	<i>CheB42a</i>	9.362	8.396	0.966
FBgn0263974	<i>qin</i>	11.187	10.223	0.963
FBgn0020633	<i>Mcm7</i>	10.679	9.718	0.961
FBgn0036999	<i>isoQC</i>	7.987	7.027	0.960
FBgn0027279	<i>l(1)G0196</i>	9.022	8.064	0.959
FBgn0035247	<i>meil</i>	12.275	11.316	0.959
FBgn0031239	<i>CG17075</i>	9.233	8.275	0.958
FBgn0033862	<i>CG6209</i>	2.442	1.491	0.951
FBgn0035558	<i>CG11357</i>	9.012	8.062	0.950
FBgn0052987	<i>CG32987</i>	2.399	1.449	0.950
FBgn0001981	<i>esg</i>	8.078	7.132	0.946
FBgn0032845	<i>CG10747</i>	9.265	8.320	0.945
FBgn0030864	<i>CG8173</i>	10.862	9.921	0.942
FBgn0036859	<i>CG14085</i>	7.009	6.068	0.941
FBgn0053468	<i>CG33468</i>	3.975	3.034	0.941
FBgn0034899	<i>CG13560</i>	3.835	2.897	0.938
FBgn0053558	<i>mim</i>	9.322	8.385	0.937
FBgn0033379	<i>Mys45A</i>	11.475	10.540	0.934
FBgn0037583	<i>CG9684</i>	10.292	9.358	0.934
FBgn0010019	<i>Cyp4g1</i>	9.323	8.393	0.930
FBgn0039069	<i>CG6763</i>	9.458	8.529	0.929
FBgn0262512	<i>Vha14-1</i>	11.307	10.381	0.926
FBgn0039639	<i>CG14512</i>	8.712	7.787	0.925
FBgn0086451	<i>l(2)k09022</i>	11.225	10.301	0.924
FBgn0031897	<i>CG13784</i>	3.953	3.029	0.924
FBgn0035823	<i>eIF4E-5</i>	7.563	6.643	0.920
FBgn0036780	<i>CG7330</i>	6.373	5.454	0.919
FBgn0063485	<i>Lasp</i>	11.142	10.231	0.911
FBgn0015929	<i>dpa</i>	11.908	10.997	0.911
FBgn0031252	<i>CG13690</i>	10.551	9.640	0.911
FBgn0032331	<i>CG14913</i>	4.939	4.030	0.909
FBgn0086372	<i>lap</i>	6.203	5.294	0.909
FBgn0040352	<i>CG14416</i>	6.745	5.836	0.909
FBgn0043791	<i>CG8147</i>	5.149	4.251	0.898
FBgn0004400	<i>rhi</i>	8.423	7.526	0.897
FBgn0027620	<i>Acfl</i>	10.764	9.871	0.893
FBgn0032034	<i>Rcd4</i>	11.355	10.463	0.892

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0037844	<i>CG4570</i>	11.377	10.486	0.891
FBgn0040063	<i>yip3</i>	9.100	8.209	0.891
FBgn0085415	<i>CG34386</i>	4.946	4.056	0.890
FBgn0036529	<i>pgant8</i>	5.239	4.351	0.888
FBgn0259242	<i>CG42340</i>	9.223	8.337	0.886
FBgn0010317	<i>CycJ</i>	8.859	7.977	0.882
FBgn0003292	<i>rt</i>	8.701	7.820	0.881
FBgn0038549	<i>CG17802</i>	7.370	6.491	0.879
FBgn0261434	<i>hkb</i>	2.912	2.034	0.879
FBgn0031969	<i>pes</i>	9.136	8.257	0.878
FBgn0262560	<i>wcd</i>	9.130	8.253	0.878
FBgn0037845	<i>CG14694</i>	11.144	10.268	0.876
FBgn0028479	<i>Mpalpha</i>	10.279	9.404	0.874
FBgn0039728	<i>CG7896</i>	4.441	3.568	0.873
FBgn0032915	<i>CG12050</i>	10.896	10.026	0.870
FBgn0036764	<i>CG5535</i>	11.108	10.238	0.870
FBgn0031126	<i>Cyp6v1</i>	8.116	7.248	0.868
FBgn0001986	<i>l(2)35Df</i>	9.448	8.583	0.865
FBgn0250846	<i>glob2</i>	4.220	3.357	0.864
FBgn0038541	<i>TyrRII</i>	3.585	2.722	0.863
FBgn0034165	<i>CG6435</i>	4.495	3.633	0.862
FBgn0033890	<i>Ctf4</i>	8.626	7.765	0.860
FBgn0037248	<i>srl</i>	10.096	9.239	0.857
FBgn0250755	<i>CG42233</i>	11.420	10.563	0.856
FBgn0052412	<i>QC</i>	9.565	8.710	0.855
FBgn0000057	<i>adp</i>	11.097	10.243	0.854
FBgn0029762	<i>NAAT1</i>	3.929	3.075	0.854
FBgn0030528	<i>CG11095</i>	8.113	7.261	0.853
FBgn0033968	<i>hui</i>	5.771	4.919	0.852
FBgn0003721	<i>Tm1</i>	10.187	9.340	0.847
FBgn0025781	<i>Cdc16</i>	10.320	9.476	0.845
FBgn0015572	<i>alpha-Est4</i>	8.023	7.182	0.841
FBgn0039098	<i>GILT3</i>	6.475	5.636	0.839
FBgn0052413	<i>CG32413</i>	6.122	5.283	0.839
FBgn0036686	<i>CG7728</i>	9.689	8.851	0.838
FBgn0259998	<i>CG17571</i>	2.656	1.821	0.836
FBgn0030478	<i>CG1640</i>	9.983	9.148	0.835
FBgn0000182	<i>BicC</i>	8.903	8.069	0.834
FBgn0026374	<i>Rhp</i>	9.510	8.677	0.834
FBgn0016078	<i>wun</i>	9.839	9.007	0.832
FBgn0037794	<i>CG6254</i>	7.781	6.954	0.827
FBgn0043799	<i>CG31381</i>	8.111	7.284	0.826
FBgn0036654	<i>CG9692</i>	8.759	7.933	0.826
FBgn0086690	<i>Plp</i>	4.978	4.158	0.819
FBgn0052442	<i>CG32442</i>	8.655	7.836	0.819
FBgn0034301	<i>CG5756</i>	3.923	3.109	0.813
FBgn0263605	<i>l(3)72Dn</i>	9.864	9.051	0.813
FBgn0025837	<i>CG17636</i>	8.465	7.652	0.813
FBgn0035132	<i>nthl10</i>	6.124	5.312	0.812
FBgn0003257	<i>r-l</i>	12.000	11.189	0.811

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0050273	<i>CG30273</i>	7.469	6.658	0.811
FBgn0035041	<i>CG13594</i>	8.007	7.201	0.807
FBgn0030666	<i>CG12708</i>	3.483	2.677	0.806
FBgn0035216	<i>CG9168</i>	8.709	7.905	0.804
FBgn0032138	<i>CG4364</i>	12.332	11.529	0.803
FBgn0040290	<i>RecQ4</i>	10.481	9.678	0.802
FBgn0039686	<i>CG15506</i>	4.112	3.310	0.802
FBgn0261286	<i>Mat89Ba</i>	10.451	9.654	0.797
FBgn0034837	<i>RpL22-like</i>	13.095	12.301	0.794
FBgn0042177	<i>CG32164</i>	12.624	11.837	0.787
FBgn0015393	<i>hoip</i>	12.042	11.259	0.783
FBgn0028380	<i>fal</i>	12.505	11.723	0.783
FBgn0023514	<i>CG14805</i>	10.200	9.417	0.783
FBgn0085434	<i>NaCP60E</i>	9.401	8.619	0.782
FBgn0014127	<i>barr</i>	9.874	9.094	0.780
FBgn0085324	<i>CG34295</i>	3.024	2.246	0.779
FBgn0038585	<i>Non3</i>	11.620	10.842	0.778
FBgn0039302	<i>Nup358</i>	12.649	11.871	0.778
FBgn0029963	<i>CG10920</i>	4.819	4.041	0.777
FBgn0030847	<i>CG12991</i>	8.106	7.329	0.777
FBgn0029167	<i>Hml</i>	2.438	1.667	0.771
FBgn0005696	<i>DNAPol-alpha73</i>	9.012	8.244	0.768
FBgn0036809	<i>CG12477</i>	10.387	9.620	0.767
FBgn0036574	<i>elg1</i>	8.805	8.041	0.764
FBgn0034721	<i>CG11298</i>	5.075	4.311	0.764
FBgn0037265	<i>spartin</i>	6.917	6.154	0.763
FBgn0038968	<i>CG12499</i>	12.619	11.858	0.761
FBgn0050409	<i>CG30409</i>	8.027	7.267	0.761
FBgn0085196	<i>CG34167</i>	3.002	2.243	0.759
FBgn0086691	<i>UK114</i>	6.384	5.626	0.758
FBgn0015524	<i>otp</i>	6.588	5.831	0.756
FBgn0002174	<i>l(2)tid</i>	9.704	8.950	0.754
FBgn0038478	<i>call</i>	11.527	10.775	0.752
FBgn0030931	<i>Rad51D</i>	4.726	3.976	0.750
FBgn0030482	<i>CG1673</i>	9.706	8.957	0.749
FBgn0020372	<i>TM4SF</i>	8.708	7.961	0.747
FBgn0027280	<i>l(1)G0193</i>	10.793	10.049	0.744
FBgn0262733	<i>Src64B</i>	10.273	9.530	0.743
FBgn0017577	<i>Mcm5</i>	12.385	11.643	0.742
FBgn0026143	<i>CDC45L</i>	8.242	7.505	0.738
FBgn0030852	<i>corolla</i>	9.917	9.182	0.735
FBgn0030720	<i>CG8939</i>	10.874	10.143	0.731
FBgn0033812	<i>Pex13</i>	9.524	8.794	0.730
FBgn0004872	<i>piwi</i>	10.420	9.694	0.727
FBgn0011638	<i>La</i>	13.062	12.338	0.724
FBgn0054040	<i>CG34040</i>	2.797	2.075	0.722
FBgn0036690	<i>llp8</i>	6.195	5.477	0.718
FBgn0260758	<i>CG42556</i>	6.083	5.379	0.704

a, b *nanos-GAL4-VP16* ホモ接合メスと *y w* 系統オスを交配して得られた胚 (a)、および *nanos-GAL4-VP16* ホモ接合メスと *UASp-OvoA* ホモ接合オスを交配して得られた胚 (b) から集めた始原生殖細胞を用いた (詳細は材料および方法を参照)。正常胚の始原生殖細胞における発現量 (A) と母性 *Ovo-B* 機能阻害胚の始原生殖細胞における発現量 (B)は、正規化後の値の平均値 (AveExpr) から遺伝子型による変化量 *Gi* を使用して求めた (AveExpr ± *Gi*/2)。表には、*Gi* が有意に変化した (*q*-value < 0.05) 遺伝子について、A / B の比の順に表示した。

表 6 母性 Ovo-B により転写が抑制される下流遺伝子

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0000810	<i>fs(1)K10</i>	8.850	12.989	-4.139
FBgn0040255	<i>Ugt86De</i>	1.423	5.267	-3.845
FBgn0040259	<i>Ugt86Da</i>	5.199	8.969	-3.769
FBgn0038018	<i>Tim17a1</i>	4.390	7.999	-3.609
FBgn0042206	<i>GstD10</i>	6.050	9.574	-3.524
FBgn0000014	<i>abd-A</i>	5.277	8.771	-3.495
FBgn0000658	<i>fj</i>	4.793	8.230	-3.437
FBgn0040674	<i>CG9445</i>	4.020	7.456	-3.436
FBgn0003996	<i>w</i>	10.919	14.315	-3.396
FBgn0035542	<i>DOR</i>	4.111	7.420	-3.310
FBgn0011149	<i>GstD1</i>	8.403	11.555	-3.152
FBgn0030623	<i>PPYR1</i>	1.591	4.702	-3.110
FBgn0034501	<i>CG13868</i>	5.864	8.958	-3.093
FBgn0023507	<i>CG3835</i>	4.418	7.465	-3.047
FBgn0027584	<i>CG4757</i>	1.303	4.201	-2.898
FBgn0039464	<i>CG6330</i>	3.229	6.113	-2.885
FBgn0047334	<i>BG642312</i>	1.826	4.694	-2.868
FBgn0037664	<i>CG8420</i>	5.690	8.531	-2.841
FBgn0011591	<i>fng</i>	3.461	6.265	-2.804
FBgn0014851	<i>Eig71Ek</i>	1.062	3.746	-2.684
FBgn0015541	<i>sda</i>	6.831	9.489	-2.657
FBgn0063494	<i>GstE6</i>	6.738	9.387	-2.648
FBgn0041184	<i>Socs36E</i>	6.619	9.228	-2.609
FBgn0005771	<i>noc</i>	7.101	9.630	-2.528
FBgn0027660	<i>blot</i>	5.130	7.550	-2.420
FBgn0000489	<i>Pka-C3</i>	4.883	7.290	-2.407
FBgn0037206	<i>CG12768</i>	4.708	7.108	-2.400
FBgn0037288	<i>CG14661</i>	1.669	4.023	-2.354
FBgn0035255	<i>RabX5</i>	4.169	6.488	-2.319
FBgn0027585	<i>CG8740</i>	1.657	3.970	-2.313
FBgn0036202	<i>CG6024</i>	7.286	9.594	-2.308
FBgn0032493	<i>Mabi</i>	3.093	5.394	-2.301
FBgn0031888	<i>Pvf2</i>	5.242	7.512	-2.269
FBgn0085244	<i>CG34215</i>	1.550	3.806	-2.256
FBgn0034201	<i>CG17290</i>	1.240	3.495	-2.255
FBgn0053548	<i>msta</i>	4.822	7.050	-2.228
FBgn0037016	<i>CG13252</i>	2.098	4.303	-2.205
FBgn0014849	<i>Eig71Ei</i>	2.554	4.748	-2.194
FBgn0031955	<i>CG14535</i>	9.170	11.343	-2.173
FBgn0030566	<i>betaNActes4</i>	6.246	8.379	-2.133
FBgn0034219	<i>mthl4</i>	5.858	7.989	-2.132
FBgn0011706	<i>rpr</i>	6.527	8.654	-2.127
FBgn0030898	<i>Andorra</i>	1.727	3.850	-2.123
FBgn0029114	<i>Tollo</i>	5.176	7.299	-2.122
FBgn0051221	<i>CG31221</i>	1.581	3.700	-2.120
FBgn0052588	<i>CG32588</i>	2.152	4.270	-2.119
FBgn0063495	<i>GstE5</i>	8.137	10.230	-2.093
FBgn0024150	<i>Ac78C</i>	4.154	6.237	-2.084
FBgn0000015	<i>Abd-B</i>	6.506	8.585	-2.079
FBgn0036046	<i>Ilp2</i>	1.445	3.521	-2.076

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0051642	<i>CG31642</i>	8.367	10.433	-2.066
FBgn0263200	<i>Galt</i>	4.203	6.254	-2.051
FBgn0036875	<i>CG9449</i>	2.513	4.556	-2.042
FBgn0037163	<i>laza</i>	5.792	7.816	-2.024
FBgn0035696	<i>Best2</i>	3.641	5.662	-2.021
FBgn0263934	<i>esn</i>	3.118	5.116	-1.998
FBgn0250871	<i>pot</i>	3.305	5.286	-1.981
FBgn0032414	<i>CG17211</i>	5.473	7.449	-1.977
FBgn0041182	<i>Tep2</i>	5.886	7.855	-1.969
FBgn0052695	<i>CG32695</i>	1.554	3.519	-1.965
FBgn0010114	<i>hig</i>	3.687	5.647	-1.960
FBgn0002543	<i>robo2</i>	5.850	7.805	-1.956
FBgn0031001	<i>CG7884</i>	4.224	6.176	-1.952
FBgn0085407	<i>Pvf3</i>	6.914	8.844	-1.930
FBgn0063493	<i>GstE7</i>	6.065	7.991	-1.926
FBgn0038020	<i>GstD9</i>	9.813	11.736	-1.923
FBgn0002719	<i>Men</i>	9.564	11.486	-1.922
FBgn0028956	<i>mthl3</i>	7.623	9.541	-1.919
FBgn0046763	<i>CG17278</i>	8.726	10.638	-1.912
FBgn0034647	<i>pirk</i>	4.732	6.603	-1.872
FBgn0266084	<i>Fhos</i>	8.672	10.543	-1.871
FBgn0250847	<i>CG14034</i>	1.093	2.940	-1.847
FBgn0259733	<i>tal-AA</i>	6.234	8.071	-1.836
FBgn0051217	<i>modSP</i>	7.414	9.244	-1.830
FBgn0259704	<i>Nsun5</i>	10.755	12.581	-1.826
FBgn0038693	<i>unc79</i>	4.981	6.804	-1.823
FBgn0041195	<i>Pkd2</i>	4.410	6.227	-1.817
FBgn0027259	<i>Knn1</i>	8.074	9.857	-1.783
FBgn0035010	<i>CG13579</i>	5.054	6.829	-1.774
FBgn0036947	<i>obst-F</i>	5.002	6.764	-1.762
FBgn0036627	<i>Gagr</i>	6.907	8.664	-1.757
FBgn0030797	<i>CG13004</i>	4.462	6.217	-1.755
FBgn0053285	<i>CG33285</i>	5.677	7.422	-1.745
FBgn0004513	<i>Mdr65</i>	4.522	6.265	-1.743
FBgn0033928	<i>Arc2</i>	4.976	6.712	-1.736
FBgn0028424	<i>Jhl-26</i>	8.274	9.998	-1.725
FBgn0031887	<i>CG11289</i>	5.358	7.079	-1.721
FBgn0029002	<i>miple2</i>	8.037	9.754	-1.717
FBgn0261113	<i>Xrp1</i>	8.768	10.461	-1.692
FBgn0000546	<i>EcR</i>	5.174	6.855	-1.681
FBgn0033582	<i>CG9084</i>	6.542	8.221	-1.679
FBgn0036786	<i>skl</i>	4.214	5.890	-1.676
FBgn0002526	<i>LanA</i>	8.279	9.953	-1.674
FBgn0011286	<i>RyR</i>	6.048	7.719	-1.671
FBgn0002985	<i>odd</i>	2.761	4.427	-1.666
FBgn0265623	<i>Su(z)2</i>	8.466	10.123	-1.657
FBgn0013733	<i>shot</i>	10.304	11.961	-1.657
FBgn0033063	<i>CG14589</i>	3.816	5.471	-1.655
FBgn0261560	<i>Thor</i>	9.271	10.925	-1.654
FBgn0034706	<i>CG11275</i>	7.445	9.097	-1.652

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0002931	<i>net</i>	4.429	6.077	-1.648
FBgn0010038	<i>GstD2</i>	4.544	6.190	-1.646
FBgn0032495	<i>CG16820</i>	1.341	2.984	-1.643
FBgn0031213	<i>galectin</i>	9.234	10.872	-1.638
FBgn0015586	<i>Acp76A</i>	3.577	5.206	-1.630
FBgn0003975	<i>vg</i>	6.131	7.757	-1.627
FBgn0040251	<i>Ugt86Di</i>	5.100	6.726	-1.627
FBgn0261836	<i>Msp300</i>	6.750	8.371	-1.620
FBgn0031542	<i>CG15414</i>	5.512	7.132	-1.620
FBgn0038934	<i>Gld2</i>	10.594	12.197	-1.604
FBgn0052354	<i>CG32354</i>	7.671	9.272	-1.601
FBgn0033296	<i>Mal-A7</i>	5.768	7.360	-1.592
FBgn0033875	<i>CG6357</i>	6.863	8.453	-1.590
FBgn0051481	<i>pb</i>	1.666	3.247	-1.581
FBgn0004646	<i>ogre</i>	7.942	9.520	-1.578
FBgn0051909	<i>CG31909</i>	1.041	2.617	-1.576
FBgn0034739	<i>CG3927</i>	3.861	5.437	-1.576
FBgn0051104	<i>CG31104</i>	1.810	3.379	-1.569
FBgn0000216	<i>Brd</i>	2.150	3.702	-1.552
FBgn0002778	<i>mnd</i>	6.862	8.409	-1.547
FBgn0260003	<i>Dys</i>	6.901	8.439	-1.538
FBgn0029507	<i>Tsp42Ed</i>	7.776	9.300	-1.524
FBgn0003328	<i>scb</i>	6.283	7.805	-1.522
FBgn0035260	<i>CG7991</i>	5.289	6.810	-1.521
FBgn0027611	<i>LManII</i>	8.917	10.436	-1.519
FBgn0029932	<i>CG4607</i>	5.640	7.158	-1.518
FBgn0032265	<i>CG18301</i>	2.468	3.982	-1.514
FBgn0038017	<i>CG4115</i>	6.326	7.840	-1.513
FBgn0016031	<i>lama</i>	6.282	7.791	-1.509
FBgn0000568	<i>Eip75B</i>	4.602	6.106	-1.504
FBgn0037213	<i>CG12581</i>	7.512	9.015	-1.503
FBgn0010039	<i>GstD3</i>	8.346	9.846	-1.501
FBgn0051816	<i>CG31816</i>	5.406	6.898	-1.492
FBgn0045495	<i>Gr28b</i>	5.868	7.359	-1.491
FBgn0045470	<i>Gr93b</i>	7.508	8.991	-1.482
FBgn0051788	<i>CG31788</i>	2.872	4.351	-1.480
FBgn0263930	<i>dally</i>	3.755	5.224	-1.469
FBgn0024913	<i>Actbeta</i>	6.700	8.164	-1.464
FBgn0050345	<i>CG30345</i>	7.979	9.441	-1.461
FBgn0250839	<i>CG2016</i>	7.013	8.471	-1.458
FBgn0037290	<i>CG1124</i>	3.927	5.380	-1.453
FBgn0003435	<i>sm</i>	7.342	8.789	-1.446
FBgn0035594	<i>CG4597</i>	4.605	6.042	-1.437
FBgn0027106	<i>Inx7</i>	4.738	6.174	-1.437
FBgn0039722	<i>Capa</i>	3.735	5.171	-1.436
FBgn0035143	<i>Ppm1</i>	7.549	8.984	-1.435
FBgn0034606	<i>ASPP</i>	7.774	9.206	-1.432
FBgn0051140	<i>CG31140</i>	6.339	7.763	-1.424
FBgn0029771	<i>CG12730</i>	5.457	6.875	-1.418
FBgn0033817	<i>GstE14</i>	4.023	5.441	-1.418

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0042094	<i>Adk3</i>	10.838	12.247	-1.409
FBgn0036437	<i>CG5048</i>	3.612	5.016	-1.404
FBgn0261563	<i>wb</i>	6.833	8.236	-1.402
FBgn0086450	<i>su(r)</i>	4.124	5.525	-1.401
FBgn0037015	<i>cmpy</i>	2.526	3.925	-1.399
FBgn0051475	<i>CG31475</i>	6.689	8.088	-1.398
FBgn0086365	<i>Orct2</i>	5.938	7.336	-1.398
FBgn0010042	<i>GstD6</i>	4.192	5.590	-1.397
FBgn0250822	<i>CG34222</i>	8.123	9.520	-1.396
FBgn0037197	<i>CG13239</i>	3.674	5.067	-1.393
FBgn0001987	<i>Gli</i>	5.828	7.218	-1.390
FBgn0035246	<i>CG13928</i>	9.162	10.550	-1.388
FBgn0026144	<i>CBP</i>	10.430	11.816	-1.386
FBgn0033521	<i>CG12896</i>	5.723	7.104	-1.381
FBgn0031081	<i>Nep3</i>	7.181	8.560	-1.379
FBgn0038179	<i>CG9312</i>	4.960	6.335	-1.375
FBgn0037796	<i>CG12814</i>	5.605	6.976	-1.371
FBgn0038181	<i>CG9297</i>	4.428	5.797	-1.369
FBgn0250876	<i>Sema-5c</i>	7.788	9.156	-1.367
FBgn0035926	<i>CG5804</i>	5.260	6.625	-1.366
FBgn0053798	<i>CG33798</i>	4.428	5.793	-1.365
FBgn0004242	<i>Sytl</i>	4.805	6.170	-1.365
FBgn0040837	<i>CG8620</i>	5.310	6.667	-1.357
FBgn0053109	<i>CG33109</i>	2.369	3.725	-1.356
FBgn0033519	<i>CG11825</i>	8.379	9.730	-1.351
FBgn0004893	<i>bow1</i>	4.938	6.287	-1.349
FBgn0037915	<i>CG6790</i>	6.610	7.955	-1.345
FBgn0034221	<i>CG10764</i>	4.650	5.989	-1.339
FBgn0038720	<i>CG6231</i>	3.147	4.480	-1.333
FBgn0051776	<i>CG31776</i>	6.114	7.440	-1.326
FBgn0001228	<i>Hsp67Bb</i>	8.951	10.272	-1.321
FBgn0083950	<i>CG34114</i>	7.206	8.527	-1.321
FBgn0003961	<i>Uro</i>	2.895	4.208	-1.312
FBgn0004919	<i>gol</i>	2.346	3.656	-1.310
FBgn0005613	<i>Sox15</i>	5.957	7.266	-1.309
FBgn0003429	<i>slo</i>	4.085	5.392	-1.308
FBgn0034013	<i>unc-5</i>	9.331	10.631	-1.300
FBgn0031703	<i>CG12512</i>	5.983	7.283	-1.300
FBgn0032377	<i>CG14937</i>	8.362	9.658	-1.296
FBgn0051997	<i>CG31997</i>	8.183	9.478	-1.296
FBgn0003888	<i>betaTub60D</i>	5.511	6.804	-1.293
FBgn0036951	<i>CG7017</i>	1.797	3.081	-1.284
FBgn0037659	<i>Kdm2</i>	8.955	10.240	-1.284
FBgn0004052	<i>Z600</i>	4.378	5.661	-1.283
FBgn0032713	<i>CG17323</i>	6.156	7.437	-1.282
FBgn0037857	<i>Teng14</i>	7.173	8.446	-1.272
FBgn0014163	<i>fax</i>	9.872	11.139	-1.267
FBgn0000542	<i>ec</i>	7.474	8.740	-1.266
FBgn0016032	<i>lbn</i>	6.960	8.223	-1.264
FBgn0002962	<i>nos</i>	13.148	14.408	-1.260

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0037354	<i>CG12171</i>	6.375	7.633	-1.257
FBgn0016920	<i>nompC</i>	4.718	5.974	-1.256
FBgn0053128	<i>CG33128</i>	5.877	7.130	-1.254
FBgn0040297	<i>Nhe2</i>	8.514	9.762	-1.249
FBgn0033720	<i>CG13160</i>	3.363	4.609	-1.247
FBgn0085447	<i>sif</i>	8.005	9.250	-1.245
FBgn0037960	<i>mthl5</i>	6.234	7.479	-1.245
FBgn0036950	<i>CG6996</i>	5.414	6.658	-1.243
FBgn0035581	<i>CG17150</i>	5.636	6.875	-1.239
FBgn0036157	<i>CG7560</i>	2.841	4.080	-1.239
FBgn0000097	<i>aop</i>	9.164	10.401	-1.237
FBgn0037910	<i>CG14708</i>	7.229	8.466	-1.237
FBgn0034860	<i>CG9812</i>	1.329	2.564	-1.234
FBgn00263234	<i>Phae1</i>	6.563	7.795	-1.232
FBgn0052237	<i>CG32237</i>	1.269	2.500	-1.232
FBgn0034197	<i>Cda9</i>	3.006	4.236	-1.230
FBgn0002633	<i>E(spl)m7-HLH</i>	9.415	10.641	-1.225
FBgn0023495	<i>Lip3</i>	4.979	6.203	-1.224
FBgn0032780	<i>CG13085</i>	6.829	8.052	-1.223
FBgn0052423	<i>shep</i>	10.133	11.351	-1.218
FBgn0032335	<i>CG14915</i>	3.634	4.849	-1.214
FBgn0053233	<i>CG33233</i>	5.658	6.866	-1.208
FBgn0013995	<i>Calx</i>	5.263	6.471	-1.208
FBgn0032123	<i>Oatp30B</i>	7.233	8.440	-1.207
FBgn0045468	<i>Gr93d</i>	6.115	7.319	-1.204
FBgn0030309	<i>CG1572</i>	8.008	9.212	-1.204
FBgn0030617	<i>CG9095</i>	4.279	5.483	-1.203
FBgn0029898	<i>CG14439</i>	5.943	7.146	-1.203
FBgn0020309	<i>crol</i>	10.651	11.853	-1.202
FBgn0086906	<i>sls</i>	6.993	8.194	-1.201
FBgn0037797	<i>CG12420</i>	2.917	4.118	-1.201
FBgn0037007	<i>CG5059</i>	8.938	10.135	-1.196
FBgn0085319	<i>CG34290</i>	8.338	9.533	-1.195
FBgn0051522	<i>CG31522</i>	4.862	6.054	-1.193
FBgn0051300	<i>CG31300</i>	1.165	2.357	-1.192
FBgn0085261	<i>CG34232</i>	9.326	10.518	-1.191
FBgn0032494	<i>CG5945</i>	5.768	6.959	-1.191
FBgn0038349	<i>AOX3</i>	8.188	9.378	-1.190
FBgn0004168	<i>5-HT1A</i>	3.913	5.098	-1.185
FBgn00263994	<i>CG43737</i>	8.259	9.443	-1.184
FBgn0004397	<i>Vinc</i>	7.192	8.368	-1.176
FBgn0005612	<i>Sox14</i>	5.070	6.243	-1.173
FBgn0053474	<i>CG33474</i>	7.008	8.180	-1.172
FBgn0033518	<i>Prx2540-2</i>	6.689	7.857	-1.169
FBgn00261545	<i>CG42663</i>	7.987	9.153	-1.165
FBgn0004360	<i>Wnt2</i>	6.633	7.798	-1.165
FBgn0029804	<i>CG3097</i>	10.107	11.268	-1.161
FBgn0037973	<i>CG18547</i>	9.041	10.198	-1.157
FBgn00259927	<i>CG42450</i>	6.807	7.964	-1.157
FBgn00250826	<i>CG34160</i>	5.223	6.376	-1.153

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0034225	<i>veil</i>	5.615	6.766	-1.152
FBgn00263705	<i>Myo10A</i>	6.370	7.522	-1.151
FBgn0001325	<i>Kr</i>	5.210	6.361	-1.151
FBgn0034644	<i>CG10082</i>	10.101	11.250	-1.149
FBgn0040491	<i>Buffy</i>	6.934	8.082	-1.148
FBgn00264270	<i>Sxl</i>	6.631	7.779	-1.148
FBgn00262475	<i>bru-2</i>	5.726	6.870	-1.144
FBgn0031929	<i>CG18585</i>	1.559	2.702	-1.143
FBgn0035439	<i>CG14961</i>	8.745	9.887	-1.142
FBgn0085412	<i>CG34383</i>	9.993	11.133	-1.140
FBgn0050363	<i>cola</i>	1.566	2.706	-1.140
FBgn0029679	<i>CG2901</i>	4.677	5.816	-1.139
FBgn0259740	<i>CG42394</i>	8.376	9.513	-1.137
FBgn0038682	<i>CG5835</i>	8.138	9.273	-1.135
FBgn0031453	<i>Bacc</i>	9.512	10.646	-1.133
FBgn0039054	<i>Cow</i>	5.443	6.576	-1.133
FBgn00265487	<i>mbl</i>	8.625	9.756	-1.131
FBgn0003165	<i>pum</i>	10.776	11.904	-1.128
FBgn0058178	<i>CG40178</i>	6.576	7.691	-1.115
FBgn0036896	<i>wnd</i>	6.800	7.914	-1.114
FBgn00260499	<i>qvr</i>	5.960	7.071	-1.111
FBgn00265296	<i>Dscam2</i>	4.464	5.575	-1.111
FBgn0036246	<i>CG17154</i>	6.125	7.236	-1.111
FBgn0060296	<i>pain</i>	8.398	9.508	-1.110
FBgn0043841	<i>vir-1</i>	6.226	7.337	-1.110
FBgn0032253	<i>LMan1</i>	6.637	7.747	-1.110
FBgn0041229	<i>Gr93a</i>	7.578	8.686	-1.108
FBgn0016076	<i>vri</i>	5.837	6.945	-1.107
FBgn0037916	<i>CG5342</i>	7.104	8.210	-1.106
FBgn0036126	<i>CG6272</i>	7.873	8.978	-1.106
FBgn00265274	<i>lnx3</i>	8.521	9.626	-1.105
FBgn0028506	<i>CG4455</i>	8.206	9.306	-1.100
FBgn0033188	<i>Drat</i>	7.833	8.933	-1.099
FBgn00262029	<i>d</i>	6.641	7.740	-1.098
FBgn0027343	<i>fc3</i>	8.228	9.321	-1.094
FBgn0039178	<i>CG6356</i>	4.082	5.175	-1.093
FBgn0039911	<i>CG1909</i>	5.834	6.923	-1.089
FBgn0053192	<i>MtnD</i>	7.014	8.101	-1.087
FBgn0026315	<i>Ugt35a</i>	6.370	7.454	-1.083
FBgn0034602	<i>Lapsyn</i>	5.028	6.111	-1.083
FBgn0034724	<i>babos</i>	7.348	8.430	-1.082
FBgn0039430	<i>CG5455</i>	7.486	8.568	-1.082
FBgn0023001	<i>melt</i>	6.229	7.306	-1.077
FBgn0039039	<i>lmd</i>	2.706	3.782	-1.077
FBgn0031515	<i>CG9664</i>	3.934	5.009	-1.075
FBgn0041180	<i>Tep4</i>	9.732	10.807	-1.075
FBgn0034153	<i>Acp53C14b</i>	5.450	6.520	-1.070
FBgn0033932	<i>Dh44-R1</i>	4.258	5.326	-1.068
FBgn0031142	<i>r-cup</i>	6.304	7.370	-1.065
FBgn0041092	<i>tai</i>	7.905	8.970	-1.065

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0012036	<i>Aldh</i>	7.408	8.472	-1.065
FBgn0026593	<i>CG5707</i>	6.234	7.298	-1.064
FBgn0053144	<i>CG33144</i>	7.946	9.006	-1.059
FBgn0032008	<i>CG14277</i>	6.736	7.793	-1.058
FBgn0035144	<i>Kah</i>	6.565	7.621	-1.056
FBgn0031016	<i>kek5</i>	10.387	11.438	-1.051
FBgn0038568	<i>CG14315</i>	5.798	6.848	-1.050
FBgn0003132	<i>Pp1-13C</i>	6.431	7.473	-1.043
FBgn0029657	<i>CG12535</i>	9.075	10.115	-1.040
FBgn0001320	<i>kni</i>	3.784	4.819	-1.036
FBgn0004647	<i>N</i>	11.083	12.118	-1.035
FBgn0037513	<i>pyd3</i>	4.509	5.544	-1.035
FBgn0002563	<i>Lsp1beta</i>	6.753	7.787	-1.034
FBgn0051742	<i>Prosbeta5R2</i>	8.066	9.098	-1.032
FBgn0040813	<i>Nplp2</i>	5.162	6.194	-1.032
FBgn0035708	<i>CG8398</i>	5.260	6.288	-1.028
FBgn0001090	<i>bnb</i>	11.973	13.000	-1.027
FBgn0025620	<i>CG13360</i>	6.460	7.486	-1.026
FBgn0026077	<i>Gasp</i>	4.589	5.612	-1.023
FBgn0052638	<i>CG32638</i>	10.504	11.527	-1.023
FBgn0004181	<i>Ebp</i>	3.865	4.888	-1.023
FBgn0261552	<i>ps</i>	8.486	9.507	-1.022
FBgn0035468	<i>Gr63a</i>	9.854	10.870	-1.017
FBgn0030156	<i>CG15247</i>	2.584	3.600	-1.016
FBgn0039613	<i>CG14527</i>	7.187	8.203	-1.016
FBgn0034884	<i>CG17662</i>	2.989	4.002	-1.013
FBgn0260400	<i>elav</i>	9.133	10.143	-1.010
FBgn0250862	<i>CG42237</i>	8.743	9.753	-1.010
FBgn0032682	<i>CG10176</i>	3.449	4.457	-1.008
FBgn0001170	<i>H2.0</i>	4.508	5.512	-1.004
FBgn0052264	<i>CG32264</i>	6.144	7.148	-1.004
FBgn0036204	<i>Tim13</i>	7.733	8.736	-1.002
FBgn0030563	<i>betaNACTes2</i>	8.552	9.554	-1.002
FBgn0028999	<i>nerfin-1</i>	5.567	6.568	-1.001
FBgn0030795	<i>ppk28</i>	7.139	8.139	-1.001
FBgn0050287	<i>CG30287</i>	6.231	7.230	-0.999
FBgn0026084	<i>cib</i>	12.846	13.845	-0.999
FBgn0041094	<i>scyl</i>	9.009	10.008	-0.999
FBgn0021738	<i>Crg-1</i>	10.094	11.091	-0.997
FBgn0037292	<i>CG2022</i>	6.315	7.312	-0.997
FBgn0038142	<i>CheA87a</i>	3.631	4.626	-0.995
FBgn0028572	<i>qtc</i>	5.616	6.611	-0.995
FBgn00263647	<i>CG43638</i>	3.867	4.861	-0.994
FBgn0026199	<i>myo</i>	8.897	9.890	-0.993
FBgn0039896	<i>yellow-h</i>	7.889	8.881	-0.992
FBgn0085461	<i>CG34432</i>	6.525	7.515	-0.990
FBgn0032464	<i>Vha68-3</i>	6.155	7.145	-0.990
FBgn0030361	<i>CG1492</i>	7.399	8.388	-0.989
FBgn0085644	<i>CR41423</i>	6.627	7.615	-0.989
FBgn0015323	<i>VACHT</i>	5.622	6.603	-0.981

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0035811	<i>CG12262</i>	10.476	11.456	-0.980
FBgn0023388	<i>Dap160</i>	7.072	8.049	-0.977
FBgn0261547	<i>Exn</i>	5.632	6.606	-0.974
FBgn0063491	<i>GstE9</i>	6.139	7.113	-0.974
FBgn0003396	<i>shn</i>	9.828	10.798	-0.970
FBgn0031461	<i>daw</i>	2.582	3.550	-0.968
FBgn0036414	<i>nan</i>	5.163	6.130	-0.968
FBgn0030918	<i>CG15056</i>	8.753	9.720	-0.967
FBgn0032483	<i>CG15482</i>	4.794	5.759	-0.965
FBgn0000721	<i>for</i>	11.119	12.084	-0.965
FBgn0034224	<i>insb</i>	3.027	3.991	-0.964
FBgn0263077	<i>CG43340</i>	4.532	5.496	-0.964
FBgn0003118	<i>pnt</i>	9.989	10.952	-0.963
FBgn0035097	<i>CG13405</i>	10.562	11.524	-0.962
FBgn0010381	<i>Drs</i>	7.420	8.380	-0.961
FBgn0052670	<i>Rab9Fb</i>	7.182	8.143	-0.960
FBgn0261553	<i>CG42671</i>	7.138	8.097	-0.960
FBgn0260463	<i>Unc-113b</i>	5.261	6.221	-0.960
FBgn0001123	<i>Galphas</i>	9.196	10.155	-0.959
FBgn0265512	<i>mlr</i>	10.431	11.389	-0.957
FBgn0263995	<i>cpo</i>	8.693	9.650	-0.957
FBgn0004657	<i>mys</i>	9.455	10.409	-0.954
FBgn0029944	<i>Dok</i>	10.313	11.266	-0.954
FBgn0038217	<i>CG14840</i>	2.633	3.582	-0.949
FBgn0032805	<i>CG10337</i>	10.468	11.417	-0.949
FBgn0040719	<i>CG15357</i>	6.991	7.939	-0.948
FBgn0032637	<i>CG5050</i>	8.364	9.309	-0.945
FBgn0026388	<i>Or46a</i>	8.080	9.024	-0.944
FBgn0004143	<i>nullo</i>	3.302	4.245	-0.943
FBgn0038440	<i>Gr89a</i>	1.276	2.218	-0.942
FBgn0037662	<i>CG11997</i>	6.781	7.723	-0.942
FBgn0052006	<i>CG32006</i>	5.735	6.676	-0.940
FBgn0037906	<i>PGRP-LB</i>	7.731	8.668	-0.937
FBgn0086779	<i>step</i>	7.363	8.299	-0.937
FBgn0032147	<i>IP3K1</i>	9.300	10.237	-0.937
FBgn0000083	<i>AnxB9</i>	9.406	10.342	-0.936
FBgn0086368	<i>tw</i>	7.951	8.885	-0.934
FBgn0013278	<i>Hsp70Bb</i>	11.493	12.424	-0.930
FBgn0002941	<i>slou</i>	5.360	6.283	-0.924
FBgn0034005	<i>IgaPS4</i>	5.890	6.812	-0.922
FBgn0033926	<i>Arc1</i>	7.601	8.521	-0.921
FBgn0024189	<i>sns</i>	6.821	7.737	-0.916
FBgn0259246	<i>brp</i>	5.689	6.604	-0.915
FBgn0040099	<i>lectin-28C</i>	2.962	3.877	-0.915
FBgn0010434	<i>cora</i>	5.418	6.332	-0.914
FBgn0040238	<i>Best1</i>	8.606	9.520	-0.914
FBgn0052459	<i>CG32459</i>	6.057	6.970	-0.912
FBgn0039071	<i>CG4434</i>	5.256	6.167	-0.911
FBgn0037989	<i>ATP8B</i>	6.587	7.497	-0.910
FBgn0037849	<i>CG4596</i>	8.346	9.255	-0.909

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0010040	<i>GstD4</i>	6.018	6.926	-0.908
FBgn0243512	<i>puc</i>	10.345	11.252	-0.908
FBgn0027836	<i>Dgp-1</i>	10.298	11.250	-0.908
FBgn0000579	<i>Eno</i>	11.652	12.558	-0.906
FBgn0053287	<i>CG33287</i>	3.091	3.994	-0.903
FBgn0019886	<i>Letm1</i>	11.664	12.565	-0.901
FBgn0050039	<i>CG30039</i>	3.361	4.261	-0.900
FBgn0040365	<i>CG14628</i>	9.137	10.035	-0.898
FBgn0000449	<i>dib</i>	5.726	6.623	-0.897
FBgn0035142	<i>hipk</i>	10.779	11.674	-0.894
FBgn0038881	<i>CG16791</i>	9.218	10.112	-0.894
FBgn0040759	<i>CG13177</i>	9.872	10.764	-0.893
FBgn0265276	<i>l(3)neo38</i>	10.302	11.192	-0.890
FBgn0017566	<i>ND-75</i>	7.176	8.066	-0.890
FBgn0033490	<i>CG12917</i>	7.878	8.768	-0.889
FBgn0050093	<i>COX6AL</i>	6.229	7.116	-0.888
FBgn0037548	<i>CG7900</i>	11.299	12.184	-0.885
FBgn0063492	<i>GstE8</i>	5.211	6.095	-0.884
FBgn0041605	<i>cpx</i>	5.444	6.325	-0.882
FBgn0003011	<i>ort</i>	3.537	4.414	-0.877
FBgn0086359	<i>Invadolysin</i>	7.158	8.035	-0.877
FBgn0029866	<i>CG3842</i>	6.598	7.472	-0.875
FBgn0038647	<i>CG14302</i>	5.838	6.710	-0.872
FBgn0031256	<i>CG4164</i>	12.331	13.203	-0.872
FBgn0262617	<i>CG43143</i>	10.043	10.915	-0.872
FBgn0053912	<i>CG33912</i>	6.038	6.909	-0.870
FBgn0037134	<i>CG7407</i>	6.823	7.690	-0.867
FBgn0037939	<i>CG14718</i>	5.255	6.122	-0.867
FBgn0002938	<i>ninaC</i>	6.030	6.896	-0.867
FBgn0038359	<i>CG5614</i>	6.103	6.961	-0.858
FBgn0033872	<i>CG6329</i>	4.403	5.260	-0.858
FBgn0031869	<i>CG18304</i>	9.935	10.792	-0.857
FBgn0039795	<i>Spn100A</i>	7.021	7.876	-0.855
FBgn0027348	<i>bgm</i>	8.316	9.169	-0.853
FBgn0024234	<i>gbb</i>	7.758	8.608	-0.850
FBgn0259111	<i>Ndae1</i>	9.700	10.550	-0.850
FBgn0003231	<i>ref(2)P</i>	10.993	11.841	-0.848
FBgn0034283	<i>CG14492</i>	4.856	5.704	-0.848
FBgn0083943	<i>CG34107</i>	3.800	4.642	-0.842
FBgn0038281	<i>RpL10Aa</i>	3.100	3.942	-0.841
FBgn0033777	<i>CG17574</i>	4.480	5.319	-0.839
FBgn0031779	<i>CG9175</i>	7.401	8.239	-0.838
FBgn0004049	<i>yrt</i>	9.223	10.061	-0.838
FBgn0036421	<i>CG13481</i>	6.309	7.146	-0.836
FBgn0053113	<i>Rtml1</i>	9.339	10.174	-0.835
FBgn0035231	<i>Cct2</i>	6.043	6.878	-0.835
FBgn0012034	<i>AcCoAS</i>	7.388	8.222	-0.834
FBgn0032192	<i>CG5731</i>	9.135	9.968	-0.833
FBgn0050468	<i>Ir52c</i>	4.147	4.979	-0.832
FBgn0035263	<i>CG12035</i>	4.843	5.670	-0.827

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0010548	<i>Aldh-III</i>	10.380	11.206	-0.827
FBgn0261954	<i>east</i>	9.103	9.926	-0.823
FBgn0020513	<i>ade5</i>	11.558	12.380	-0.822
FBgn0035608	<i>blanks</i>	14.468	15.289	-0.822
FBgn0037731	<i>CG18542</i>	8.049	8.869	-0.820
FBgn0032719	<i>CG17321</i>	3.977	4.795	-0.817
FBgn0033788	<i>CG13323</i>	6.302	7.115	-0.813
FBgn0032336	<i>AstC</i>	3.164	3.977	-0.813
FBgn0260446	<i>GABA-B-R1</i>	7.240	8.053	-0.813
FBgn0039467	<i>CG14253</i>	9.174	9.986	-0.813
FBgn0030396	<i>CG2556</i>	8.223	9.035	-0.812
FBgn0262579	<i>Ect4</i>	11.255	12.066	-0.811
FBgn0034398	<i>CG15098</i>	10.888	11.698	-0.810
FBgn0010497	<i>dmGlut</i>	8.260	9.070	-0.810
FBgn0011225	<i>jar</i>	7.459	8.268	-0.809
FBgn0023090	<i>dtr</i>	6.368	7.173	-0.806
FBgn0035431	<i>CG14968</i>	7.774	8.576	-0.802
FBgn0015380	<i>drl</i>	8.444	9.245	-0.801
FBgn0053194	<i>CheA29a</i>	5.295	6.094	-0.800
FBgn0029993	<i>CG1571</i>	9.711	10.511	-0.799
FBgn0036260	<i>Rh7</i>	6.273	7.071	-0.798
FBgn0030748	<i>Traf-like</i>	8.624	9.422	-0.798
FBgn0011277	<i>HLH4C</i>	2.192	2.989	-0.797
FBgn0033538	<i>CG11883</i>	9.140	9.936	-0.796
FBgn0021872	<i>Xbp1</i>	11.756	12.553	-0.796
FBgn0033686	<i>Hen1</i>	10.250	11.044	-0.794
FBgn0027108	<i>lrx2</i>	11.202	11.994	-0.792
FBgn0051106	<i>CG31106</i>	5.564	6.353	-0.790
FBgn0026415	<i>ldgf4</i>	9.086	9.874	-0.788
FBgn0260866	<i>dnr1</i>	4.961	5.746	-0.785
FBgn0263235	<i>Phae2</i>	6.607	7.390	-0.783
FBgn0020304	<i>drongo</i>	11.813	12.593	-0.780
FBgn0264089	<i>sli</i>	9.655	10.433	-0.778
FBgn0087007	<i>bbg</i>	8.836	9.612	-0.776
FBgn0035499	<i>Chd64</i>	11.802	12.575	-0.773
FBgn0262518	<i>Rab8</i>	9.058	9.828	-0.770
FBgn0086708	<i>stv</i>	7.440	8.209	-0.769
FBgn0017581	<i>Lk6</i>	12.225	12.993	-0.768
FBgn0250910	<i>Octbeta3R</i>	5.887	6.654	-0.766
FBgn0028894	<i>GMF</i>	9.941	10.707	-0.766
FBgn0040532	<i>CG8369</i>	8.980	9.745	-0.765
FBgn0045469	<i>Gr93c</i>	5.645	6.407	-0.762
FBgn0013272	<i>Gp150</i>	10.110	10.871	-0.761
FBgn0036676	<i>CG13028</i>	6.802	7.562	-0.760
FBgn0261800	<i>LanB1</i>	10.514	11.274	-0.760
FBgn0001223	<i>Hsp22</i>	11.306	12.066	-0.759
FBgn0032485	<i>CG9426</i>	10.715	11.473	-0.759
FBgn0034198	<i>CG11400</i>	5.116	5.873	-0.757
FBgn0039768	<i>CG15533</i>	4.424	5.181	-0.757
FBgn0014388	<i>stry</i>	9.007	9.758	-0.751

FBgn	遺伝子名	正常胚PGCsにおける 発現量(log ₂) (A) ^a	母性Ovo-B KD PGCsにおける 発現量(log ₂) (B) ^b	A / B (log ₂)
FBgn0259678	<i>sqa</i>	6.846	7.597	-0.751
FBgn0050104	<i>NT5E-2</i>	2.437	3.176	-0.739
FBgn0032376	<i>Tsp33B</i>	8.230	8.967	-0.738
FBgn0031409	<i>CG4271</i>	3.927	4.664	-0.737
FBgn0034723	<i>CG13506</i>	5.212	5.945	-0.733
FBgn0039180	<i>CG5715</i>	9.843	10.568	-0.725
FBgn0039808	<i>CG12071</i>	8.540	9.261	-0.720
FBgn0030654	<i>CG15643</i>	4.518	5.236	-0.718
FBgn0263241	<i>Mocs1</i>	9.829	10.532	-0.703

a, b *nanos-GAL4-VP16* ホモ接合メスと *y w* 系統オスを交配して得られた胚 (a)、および *nanos-GAL4-VP16* ホモ接合メスと *UASp-OvoA* ホモ接合オスを交配して得られた胚 (b) から集めた始原生殖細胞を用いた (詳細は材料および方法を参照)。正常胚の始原生殖細胞における発現量 (A) と母性 *Ovo-B* 機能阻害胚の始原生殖細胞における発現量 (B) は、正規化後の値の平均値 (AveExpr) から遺伝子型による変化量 *Gi* を使用して求めた (AveExpr ± *Gi*/2)。表には、*Gi* が有意に変化した (q-value < 0.05) 遺伝子について、A / B の比の順に表示した。

表 7 母性 Ovo により転写が促進される下流遺伝子群に対しての GO 解析

GO_id	GO_DEG ^a	GO_nonDEG ^b	nonGO_DEG ^c	nonGO_nonDEG ^d	p-value ^e	q-value ^f	GOterm	gene name
GO:0043138	4	7	341	9931	0.000341	0.75639	3'-5' DNA helicase activity	<i>dpa, Mcm5, Mcm7, CDC45L</i>
GO:0017145	3	2	342	9936	0.000356	0.75639	stem cell division	<i>aub, dpp, piwi</i>
GO:0007443	6	25	339	9913	0.000494	0.75639	Malpighian tubule morphogenesis	<i>dpp, fas, kkv, ct, barr, cv-c</i>
GO:0010529	3	3	342	9935	0.000694	0.75639	negative regulation of transposition	<i>aub, piwi, tej</i>
GO:0006270	4	9	341	9929	0.0007	0.75639	DNA replication initiation	<i>dpa, Mcm5, Mcm7, CDC45L</i>
GO:0006813	5	19	340	9919	0.001037	0.75639	potassium ion transport	<i>Ork1, SK, nrv3, CG42732, lh</i>
GO:0001715	2	0	343	9938	0.001122	0.75639	ectodermal cell fate specification	<i>dpp, dl</i>
GO:0016603	2	0	343	9938	0.001122	0.75639	glutaminyl-peptide cyclotransferase activity	<i>isoQC, QC</i>
GO:0017186	2	0	343	9938	0.001122	0.75639	peptidyl-pyroglutamic acid biosynthetic process, using glutaminyl-peptide cyclotransferase	<i>isoQC, QC</i>
GO:0042555	3	4	342	9934	0.001185	0.75639	MCM complex	<i>dpa, Mcm5, Mcm7</i>
GO:0005730	9	77	336	9861	0.002295	1	nucleolus	<i>hoip, CG8939, CG4364, Mys45A, CG9004, call, nht, Mat89Ba, wcd</i>
GO:0007424	10	94	335	9844	0.002523	1	open tracheal system development	<i>dpp, kkv, esg, ct, barr, wun, Cdk4, caps, cv-c, Src64B</i>
GO:0007304	5	24	340	9914	0.002524	1	chorion-containing eggshell formation	<i>dpp, fs(1)M3, Cp7Fc, Ilp8, Pxt</i>
GO:0005656	3	6	342	9932	0.002705	1	nuclear pre-replicative complex	<i>Mcm5, Mcm7, CDC45L</i>
GO:0007020	3	6	342	9932	0.002705	1	microtubule nucleation	<i>gammaTub37C, CG7716, cp309</i>
GO:0048477	16	197	329	9741	0.002821	1	oogenesis	<i>aub, BicC, cup, dpp, squ, ovo, pip, Ptp61F, Tm1, ct, yl, retn, orb, RecQ4, Src64B, vret</i>
GO:0006260	6	38	339	9900	0.003283	1	DNA replication	<i>DNAPol-alpha73, RnrS, DNAPol-alpha50, dpa, CDC45L, RecQ4</i>
GO:0004733	2	1	343	9937	0.003293	1	pyridoxamine-phosphate oxidase activity	<i>CG31472, CG31473</i>
GO:0015269	2	1	343	9937	0.003293	1	calcium-activated potassium channel activity	<i>SK, CG42732</i>
GO:0035156	2	1	343	9937	0.003293	1	fusion cell fate specification	<i>dpp, esg</i>
GO:0036062	2	1	343	9937	0.003293	1	presynaptic periaxonal zone	<i>Fas2, Ank2</i>
GO:0035006	3	7	342	9931	0.003769	1	melanization defense response	<i>Hml, egr, dl</i>
GO:0005814	4	17	341	9921	0.004739	1	centriole	<i>Cam, spd-2, Rcd4, cp309</i>
GO:0035158	3	8	342	9930	0.005054	1	regulation of tube diameter, open tracheal system	<i>dpp, Fas2, kkv</i>
GO:0007369	4	18	341	9920	0.005642	1	gastrulation	<i>fog, fal, dl, hkb</i>
GO:0043186	4	18	341	9920	0.005642	1	P granule	<i>aub, squ, tej, qin</i>
GO:0005658	2	2	343	9936	0.006439	1	alpha DNA polymerase:primase complex	<i>DNAPol-alpha73, DNAPol-alpha50</i>
GO:0008615	2	2	343	9936	0.006439	1	pyridoxine biosynthetic process	<i>CG31472, CG31473</i>
GO:0015385	2	2	343	9936	0.006439	1	sodium:hydrogen antiporter activity	<i>Nhe3, Nha1</i>
GO:0046012	2	2	343	9936	0.006439	1	positive regulation of oskar mRNA translation	<i>aub, orb</i>

a, b GO に属する遺伝子のうち、母性 Ovo-B によって転写が促進された遺伝子の数 (a)、されなかった遺伝子の数 (b) を示す。
c, d GO に属さない遺伝子のうち、母性 Ovo-B によって転写が促進された遺伝子の数 (c)、されなかった遺伝子の数 (d) を示す。
e Fisher's Exact test で a/b と c/d の有意差を検定し得られた p-value を示す。表では p-value が小さい順に表示した。
f すべての GO について検定を行ったため、Storey 法に基づいて多重検定の補正をおこなって得られた q-value を示す。

表 8 母性 Ovo により転写が抑制される下流遺伝子群に対しての GO 解析

GO_id	GO_DEG ^a	GO_nonDEG ^b	nonGO_DEG ^c	nonGO_nonDEG ^d	p-value ^e	q-value ^f	GOterm	gene name
GO:0004364	13	26	420	9824	3.27E-09	1.04E-05	glutathione transferase activity	<i>GstD1, GstD2, GstD3, GstD4, GstD6, GstE14, GstD9, GstD10, GstE9, GstE8, GstE7, GstE6, GstE5</i>
GO:0006749	13	26	420	9824	3.27E-09	1.04E-05	glutathione metabolic process	<i>GstD1, GstD2, GstD4, GstD6, CG1492, GstE14, GstD9, GstD10, GstE9, GstE8, GstE7, GstE6, GstE5</i>
GO:0008406	9	24	424	9826	5.99E-06	0.012752	gonad development	<i>abd-A, Abd-B, aop, lea, fz3, Invadolysin, wb, LanB1, sli</i>
GO:0008083	8	21	425	9829	1.82E-05	0.029061	growth factor activity	<i>gbb, Actbeta, myo, miple2, daw, Pvf2, Pvf3, Sxl</i>
GO:0007517	12	58	421	9792	3.08E-05	0.039317	muscle organ development	<i>aop, EcR, kni, Kr, slou, Wnt2, mys, shot, lmd, sls, Dys, mbl</i>
GO:0016348	5	6	428	9844	4.84E-05	0.046375	imaginal disc-derived leg joint morphogenesis	<i>ffj, odd, ovo, N, bowl</i>
GO:0007391	14	83	419	9767	5.09E-05	0.046375	dorsal closure	<i>aop, dtb, scb, shn, yrt, N, mys, cora, jar, gbb, Dok, puc, Myo10A, Inx3</i>
GO:0050974	3	0	430	9850	7.42E-05	0.058335	detection of mechanical stimulus involved in sensory perception	<i>nompC, nan, pain</i>
GO:0008586	9	36	424	9814	8.78E-05	0.058335	imaginal disc-derived wing vein morphogenesis	<i>net, shn, gbb, hipk, Socs36E, step, Dys, d, dally</i>
GO:0003779	15	100	418	9750	9.14E-05	0.058335	actin binding	<i>AnxB9, nullo, Vinc, cora, jar, shot, cib, CG5869, CG9426, Chd64, sls, Dys, Unc-115b, Msp-300, Fhos</i>
GO:0005243	4	4	429	9846	0.00019	0.080696	gap junction channel activity	<i>ogre, Inx7, Inx2, Inx3</i>
GO:0005921	4	4	429	9846	0.00019	0.080696	gap junction	<i>ogre, Inx7, Inx2, Inx3</i>
GO:0008305	4	4	429	9846	0.00019	0.080696	integrin complex	<i>scb, mys, ItgalphaPS4, Msp-300</i>
GO:0009166	4	4	429	9846	0.00019	0.080696	nucleotide catabolic process	<i>CG11883, veil, CG6330, NTSE-2</i>
GO:0010496	4	4	429	9846	0.00019	0.080696	intercellular transport	<i>ogre, Inx7, Inx2, Inx3</i>
GO:0007268	9	41	424	9809	0.000206	0.081995	synaptic transmission	<i>Galphas, ort, pum, Syt1, dtr, CG1909, sij, brp, cpo</i>
GO:0008092	6	16	427	9834	0.000226	0.081995	cytoskeletal protein binding	<i>yrt, cora, shot, nompC, Dys, Msp-300</i>
GO:0007476	20	177	413	9673	0.000236	0.081995	imaginal disc-derived wing morphogenesis	<i>Pka-C3, EcR, Galphas, LanA, pnt, shn, vg, N, fng, crol, ade5, Inx7, Dok, dnr1, Xrp1, wb, CG43340, dally, l(3)neo38, mbl</i>
GO:0008039	7	24	426	9826	0.000244	0.081995	synaptic target recognition	<i>Gli, lea, hig, CG2901, galectin, Pvf3, pot</i>
GO:0007631	3	1	430	9849	0.000287	0.089631	feeding behavior	<i>for, Gr28b, pain</i>
GO:0006816	6	17	427	9833	0.000295	0.089631	calcium ion transport	<i>RyR, Calx, nompC, nan, CG9297, pain</i>
GO:0048190	8	34	425	9816	0.00031	0.089804	wing disc dorsal/ventral pattern formation	<i>AnxB9, pnt, shn, vg, N, fng, CG8369, dally</i>
GO:0008016	4	5	429	9845	0.00033	0.091585	regulation of heart contraction	<i>for, AstC, Capa, pain</i>
GO:0002121	8	37	425	9813	0.000506	0.130552	inter-male aggressive behavior	<i>LanA, noc, Gp150, lama, ade5, Bacc, CG17323, Rtn1</i>
GO:0008362	5	12	428	9838	0.000526	0.130552	chitin-based embryonic cuticle biosynthetic process	<i>dib, EcR, cora, puc, pot</i>
GO:0005604	4	6	429	9844	0.000532	0.130552	basement membrane	<i>Galphas, LanA, wb, LanB1</i>
GO:0007157	6	20	427	9830	0.000604	0.142813	heterophilic cell-cell adhesion	<i>pnt, scb, N, mys, sns, ItgalphaPS4</i>
GO:0005856	7	29	426	9821	0.000646	0.147242	cytoskeleton	<i>ninaC, yrt, cora, shot, CG1909, Dys, dnr1</i>
GO:0005605	3	2	430	9848	0.000696	0.148069	basal lamina	<i>LanA, wb, LanB1</i>
GO:0030155	3	2	430	9848	0.000696	0.148069	regulation of cell adhesion	<i>LanA, step, wb</i>

- a, b GO に属する遺伝子のうち、母性 Ovo-B によって転写が促進された遺伝子の数 (a)、されなかった遺伝子の数 (b) を示す。
c, d GO に属さない遺伝子のうち、母性 Ovo-B によって転写が促進された遺伝子の数 (c)、されなかった遺伝子の数 (d) を示す。
e Fisher's Exact test で a/b と c/d の有意差を検定し得られた p-value を示す。表では p-value が小さい順に表示した。
f すべての GO について検定を行ったため、Storey 法に基づいて多重検定の補正をおこなって得られた q-value を示す。

表 9 母性 Ovo により転写が促進される PGC-enriched genes

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと 正常胚PGCにおける 発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と 胚全体における 発現量の比 (log ₂) ^a	KDした系統 ^b
FBgn0036224	<i>Rpt4R</i>	1.77	4.69	
FBgn0034837	<i>RpL22-like</i>	0.79	4.55	○
FBgn0032740	<i>CG15172</i>	1.24	4.53	
FBgn0036809	<i>CG12477</i>	0.77	4.44	○
FBgn0010317	<i>CycJ</i>	0.88	2.86	
FBgn0040351	<i>CG11638</i>	1.62	2.84	○
FBgn0052373	<i>CG32373</i>	1.21	2.70	
FBgn0004872	<i>piwi</i>	0.73	2.59	○
FBgn0050409	<i>CG30409</i>	0.76	2.56	
FBgn0000146	<i>aub</i>	1.19	2.47	
FBgn0040063	<i>yip3</i>	0.89	2.40	
FBgn0033374	<i>CG13741</i>	1.18	2.29	
FBgn0030852	<i>CG8316</i>	0.73	2.26	
FBgn0015571	<i>alpha-Est3</i>	1.67	2.18	
FBgn0020372	<i>TM45F</i>	0.75	2.13	
FBgn0010097	<i>gammaTub37C</i>	1.85	2.09	
FBgn0001311	<i>kkv</i>	1.81	1.95	
FBgn0024366	<i>CG11409</i>	1.07	1.90	
FBgn0035153	<i>ebd1</i>	1.33	1.90	○
FBgn0260386	<i>mtg</i>	1.28	1.88	
FBgn0033921	<i>tej</i>	1.19	1.79	
FBgn0032400	<i>CG6770</i>	1.08	1.74	
FBgn0011638	<i>La</i>	0.72	1.72	○
FBgn0015569	<i>alpha-Est10</i>	2.07	1.64	
FBgn0040367	<i>CG11382</i>	2.76	1.57	
FBgn0038723	<i>CG6195</i>	1.21	1.56	
FBgn0263143	<i>vret</i>	1.07	1.55	
FBgn0037265	<i>spartin</i>	0.76	1.55	
FBgn0039069	<i>CG6763</i>	0.93	1.48	
FBgn0005390	<i>fs(1)M3</i>	4.12	1.42	
FBgn0028380	<i>fal</i>	0.78	1.32	
FBgn0015393	<i>hoip</i>	0.78	1.27	○
FBgn0086254	<i>CG6084</i>	1.03	1.25	
FBgn0028703	<i>Nhe3</i>	0.99	1.21	
FBgn0000057	<i>adp</i>	0.85	1.21	
FBgn0002174	<i>l(2)tid</i>	0.75	1.20	
FBgn0032946	<i>nrv3</i>	1.45	1.10	
FBgn0042177	<i>CG32164</i>	0.79	1.09	
FBgn0041103	<i>nht</i>	1.41	1.08	
FBgn0033980	<i>Cyp6a20</i>	1.53	1.08	
FBgn0036764	<i>CG5535</i>	0.87	1.03	
FBgn0029801	<i>CG15771</i>	1.36	0.99	

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと 正常胚PGCにおける 発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と 胚全体における 発現量の比 (log ₂) ^a	KDした系統 ^b
FBgn0010620	<i>Sip1</i>	2.17	0.97	
FBgn0022359	<i>Sodh-2</i>	1.15	0.96	
FBgn0030478	<i>CG1640</i>	0.83	0.95	
FBgn0052677	<i>X11Lbeta</i>	1.63	0.94	
FBgn0037248	<i>srl</i>	0.86	0.93	○
FBgn0058006	<i>CG40006</i>	0.98	0.90	
FBgn0034988	<i>CG3362</i>	1.23	0.88	
FBgn0033459	<i>CG12744</i>	1.69	0.88	○
FBgn0039640	<i>CG14516</i>	2.72	0.86	
FBgn0033557	<i>CG12325</i>	1.39	0.86	
FBgn0030847	<i>CG12991</i>	0.78	0.86	
FBgn0030528	<i>CG11095</i>	0.85	0.83	
FBgn0030033	<i>CG1387</i>	1.55	0.83	
FBgn0035086	<i>CG12851</i>	1.19	0.76	
FBgn0063485	<i>Lasp</i>	0.91	0.75	
FBgn0030622	<i>CG9101</i>	1.02	0.72	
FBgn0004882	<i>orb</i>	1.41	0.70	○
FBgn0027279	<i>l(1)G0196</i>	0.96	0.69	
FBgn0029761	<i>SK</i>	1.33	0.69	
FBgn0001986	<i>l(2)35Df</i>	0.86	0.68	
FBgn0031419	<i>CG15390</i>	1.56	0.65	
FBgn0051472	<i>CG31472</i>	2.24	0.65	
FBgn0032845	<i>CG10747</i>	0.95	0.63	
FBgn0051861	<i>CG31861</i>	1.01	0.62	
FBgn0040290	<i>RecQ4</i>	0.80	0.56	
FBgn0035797	<i>CG14837</i>	1.21	0.52	
FBgn0003462	<i>Sod</i>	1.22	0.52	
FBgn0027280	<i>l(1)G0193</i>	0.74	0.48	
FBgn0033890	<i>Ctf4</i>	0.86	0.47	
FBgn0035247	<i>met1</i>	0.96	0.47	
FBgn0035039	<i>CG3608</i>	1.08	0.46	
FBgn0038968	<i>CG12499</i>	0.76	0.45	
FBgn0037076	<i>ebd2</i>	1.56	0.44	
FBgn0086451	<i>l(2)k09022</i>	0.92	0.39	
FBgn0262560	<i>wcd</i>	0.88	0.39	
FBgn0003257	<i>r-l</i>	0.81	0.37	
FBgn0037583	<i>CG9684</i>	0.93	0.35	
FBgn0031418	<i>CG3609</i>	1.11	0.33	
FBgn0030720	<i>CG8939</i>	0.73	0.29	

a 始原生殖細胞と胚全体における発現量の比の順に表示した。

b 機能障害をおこなった遺伝子を、始原生殖細胞と胚全体における発現量の比が高い遺伝子を赤、RNA結合タンパク質をコードする遺伝子を緑、DNA結合タンパク質をコードする遺伝子を黄色で示した。

表 10 母性 Ovo により転写が抑制される soma-enriched genes

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと 正常胚PGCにおける 発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と 胚全体における 発現量の比 (log ₂) ^a
FBgn0040813	<i>Nplp2</i>	-1.03	-4.82
FBgn0263930	<i>dally</i>	-1.47	-4.19
FBgn0000216	<i>Brd</i>	-1.55	-4.04
FBgn0001090	<i>bnb</i>	-1.03	-4.01
FBgn0031001	<i>CG7884</i>	-1.95	-4.00
FBgn0265274	<i>Inx3</i>	-1.10	-3.99
FBgn0032335	<i>CG14915</i>	-1.21	-3.75
FBgn0010434	<i>cora</i>	-0.91	-3.73
FBgn0034224	<i>CG6520</i>	-0.96	-3.72
FBgn0005771	<i>noc</i>	-2.53	-3.63
FBgn0028999	<i>nerfin-1</i>	-1.00	-3.55
FBgn0031453	<i>Bacc</i>	-1.13	-3.42
FBgn0004052	<i>Z600</i>	-1.28	-3.41
FBgn0086365	<i>Orc12</i>	-1.40	-3.36
FBgn0002526	<i>LanA</i>	-1.67	-3.35
FBgn0003888	<i>betaTub60D</i>	-1.29	-3.32
FBgn0014163	<i>fax</i>	-1.27	-3.28
FBgn0036875	<i>CG9449</i>	-2.04	-3.24
FBgn0037664	<i>CG8420</i>	-2.84	-3.20
FBgn0029002	<i>miple2</i>	-1.72	-3.17
FBgn0026593	<i>CG5707</i>	-1.06	-3.14
FBgn0001325	<i>Kr</i>	-1.15	-3.14
FBgn0032493	<i>CG15479</i>	-2.30	-3.10
FBgn0034723	<i>CG13506</i>	-0.73	-3.06
FBgn0263200	<i>Galt</i>	-2.05	-3.05
FBgn0014388	<i>sty</i>	-0.75	-3.02
FBgn0037513	<i>pyd3</i>	-1.03	-2.92
FBgn0027660	<i>blot</i>	-2.42	-2.78
FBgn0260463	<i>Unc-115b</i>	-0.96	-2.78
FBgn0000546	<i>EcR</i>	-1.68	-2.76
FBgn0039795	<i>Spn100A</i>	-0.86	-2.76
FBgn0000449	<i>dib</i>	-0.90	-2.75
FBgn0032719	<i>CG17321</i>	-0.82	-2.75
FBgn0027108	<i>Inx2</i>	-0.79	-2.74
FBgn0002931	<i>net</i>	-1.65	-2.73
FBgn0004143	<i>nullo</i>	-0.94	-2.69
FBgn0029114	<i>Tollo</i>	-2.12	-2.69
FBgn0000658	<i>fj</i>	-3.44	-2.69
FBgn0033521	<i>CG12896</i>	-1.38	-2.67
FBgn0041605	<i>cpx</i>	-0.88	-2.65
FBgn0004893	<i>bow1</i>	-1.35	-2.65
FBgn0260400	<i>elav</i>	-1.01	-2.59
FBgn0034013	<i>unc-5</i>	-1.30	-2.58
FBgn0086450	<i>su(r)</i>	-1.40	-2.57
FBgn0039464	<i>CG6330</i>	-2.88	-2.57
FBgn0001149	<i>GstD1</i>	-3.15	-2.55
FBgn0250876	<i>Sema-5c</i>	-1.37	-2.53

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと 正常胚PGCにおける 発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と 胚全体における 発現量の比 (log ₂) ^a
FBgn0250839	<i>CG2016</i>	-1.46	-2.48
FBgn0035542	<i>DOR</i>	-3.31	-2.48
FBgn0002941	<i>slou</i>	-0.92	-2.44
FBgn0028424	<i>Jhl-26</i>	-1.72	-2.40
FBgn0037213	<i>CG12581</i>	-1.50	-2.39
FBgn0015380	<i>drl</i>	-0.80	-2.36
FBgn0028506	<i>CG4455</i>	-1.10	-2.35
FBgn0026415	<i>Idgf4</i>	-0.79	-2.35
FBgn0000014	<i>abd-A</i>	-3.49	-2.35
FBgn0016076	<i>vri</i>	-1.11	-2.32
FBgn0002985	<i>odd</i>	-1.67	-2.30
FBgn0033518	<i>Prx2540-2</i>	-1.17	-2.30
FBgn0038017	<i>CG4115</i>	-1.51	-2.29
FBgn0053113	<i>Rml1</i>	-0.83	-2.26
FBgn0002543	<i>lea</i>	-1.96	-2.24
FBgn0011286	<i>RyR</i>	-1.67	-2.22
FBgn0051522	<i>CG31522</i>	-1.19	-2.19
FBgn0039039	<i>lmd</i>	-1.08	-2.16
FBgn0001320	<i>kni</i>	-1.04	-2.15
FBgn0086906	<i>sls</i>	-1.20	-2.12
FBgn0037797	<i>CG12420</i>	-1.20	-2.11
FBgn0250871	<i>pot</i>	-1.98	-2.09
FBgn0063492	<i>GstE8</i>	-0.88	-2.08
FBgn0001987	<i>Gli</i>	-1.39	-2.05
FBgn0063494	<i>GstE6</i>	-2.65	-2.05
FBgn0000015	<i>Abd-B</i>	-2.08	-2.02
FBgn0041184	<i>Socs36E</i>	-2.61	-2.00
FBgn0039430	<i>CG5455</i>	-1.08	-2.00
FBgn0034706	<i>CG11275</i>	-1.65	-2.00
FBgn0041094	<i>scyl</i>	-1.00	-1.99
FBgn0013272	<i>Gp150</i>	-0.76	-1.97
FBgn0024234	<i>gbb</i>	-0.85	-1.96
FBgn0038881	<i>CG16791</i>	-0.89	-1.95
FBgn0035708	<i>CG8398</i>	-1.03	-1.94
FBgn0005612	<i>Sox14</i>	-1.17	-1.91
FBgn0262518	<i>Rab8</i>	-0.77	-1.91
FBgn0016031	<i>lama</i>	-1.51	-1.87
FBgn0004360	<i>Wnt2</i>	-1.17	-1.84
FBgn0037016	<i>CG13252</i>	-2.20	-1.81
FBgn0032123	<i>Oatp30B</i>	-1.21	-1.81
FBgn0002778	<i>mnd</i>	-1.55	-1.79
FBgn0024150	<i>Ac78C</i>	-2.08	-1.78
FBgn0004646	<i>ogre</i>	-1.58	-1.77
FBgn0003328	<i>scb</i>	-1.52	-1.75
FBgn0029866	<i>CG3842</i>	-0.87	-1.73
FBgn0010038	<i>GstD2</i>	-1.65	-1.73
FBgn0000097	<i>aop</i>	-1.24	-1.73

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと正常胚PGCにおける発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と胚全体における発現量の比 (log ₂) ^a
FBgn0013995	<i>Calx</i>	-1.21	-1.71
FBgn0039467	<i>CG14253</i>	-0.81	-1.71
FBgn0086368	<i>tw</i>	-0.93	-1.71
FBgn0051300	<i>CG31300</i>	-1.19	-1.68
FBgn0026077	<i>Gasp</i>	-1.02	-1.66
FBgn0042206	<i>GstD10</i>	-3.52	-1.65
FBgn0029804	<i>CG3097</i>	-1.16	-1.64
FBgn0063493	<i>GstE7</i>	-1.93	-1.63
FBgn0000489	<i>Pka-C3</i>	-2.41	-1.63
FBgn0036786	<i>skl</i>	-1.68	-1.61
FBgn0002633	<i>E(spl)m7-HLH</i>	-1.23	-1.59
FBgn0001170	<i>H2.0</i>	-1.00	-1.57
FBgn0026144	<i>CBP</i>	-1.39	-1.56
FBgn0046763	<i>CG17278</i>	-1.91	-1.56
FBgn0004647	<i>N</i>	-1.04	-1.53
FBgn0041182	<i>Tep2</i>	-1.97	-1.51
FBgn0035811	<i>CG12262</i>	-0.98	-1.51
FBgn0027348	<i>bgm</i>	-0.85	-1.51
FBgn0011225	<i>jar</i>	-0.81	-1.48
FBgn0034724	<i>babos</i>	-1.08	-1.48
FBgn0027259	<i>Kmn1</i>	-1.78	-1.48
FBgn0032682	<i>CG10176</i>	-1.01	-1.47
FBgn0001123	<i>Galphas</i>	-0.96	-1.46
FBgn0031016	<i>kek5</i>	-1.05	-1.45
FBgn0016032	<i>lbn</i>	-1.26	-1.45
FBgn0028572	<i>qtc</i>	-0.99	-1.41
FBgn0000083	<i>AnxB9</i>	-0.94	-1.41
FBgn0033188	<i>Drat</i>	-1.10	-1.38
FBgn0033817	<i>GstE14</i>	-1.42	-1.37
FBgn0003165	<i>pum</i>	-1.13	-1.36
FBgn0052638	<i>CG32638</i>	-1.02	-1.35
FBgn0043841	<i>vir-1</i>	-1.11	-1.33
FBgn0033926	<i>Arc1</i>	-0.92	-1.33
FBgn0028894	<i>CG5869</i>	-0.77	-1.32
FBgn0002719	<i>Men</i>	-1.92	-1.30
FBgn0030617	<i>CG9095</i>	-1.20	-1.29
FBgn0004049	<i>yrt</i>	-0.84	-1.29
FBgn0010114	<i>hig</i>	-1.96	-1.25
FBgn0034501	<i>CG13868</i>	-3.09	-1.25
FBgn0026199	<i>myo</i>	-0.99	-1.25
FBgn0024189	<i>sns</i>	-0.92	-1.22
FBgn0000810	<i>fs(1)K10</i>	-4.14	-1.20
FBgn0003975	<i>vg</i>	-1.63	-1.20
FBgn0011591	<i>fnig</i>	-2.80	-1.18
FBgn0031256	<i>CG4164</i>	-0.87	-1.18
FBgn0034602	<i>Lapsyn</i>	-1.08	-1.17
FBgn0086708	<i>stv</i>	-0.77	-1.15
FBgn0029771	<i>CG12730</i>	-1.42	-1.15
FBgn0029944	<i>Dok</i>	-0.95	-1.15
FBgn0063491	<i>GstE9</i>	-0.97	-1.15

FBgn	遺伝子名	母性Ovo-B KD PGCと正常胚PGCにおける発現量の比 (log ₂)	始原生殖細胞と胚全体における発現量の比 (log ₂) ^a
FBgn0040259	<i>Ugr86Da</i>	-3.77	-1.13
FBgn0033777	<i>CG17574</i>	-0.84	-1.13
FBgn0004919	<i>gol</i>	-1.31	-1.13
FBgn0036896	<i>wnd</i>	-1.11	-1.12
FBgn0037354	<i>CG12171</i>	-1.26	-1.11
FBgn0260866	<i>dnr1</i>	-0.79	-1.10
FBgn0027611	<i>LM408</i>	-1.52	-1.10
FBgn0039178	<i>CG6356</i>	-1.09	-1.06
FBgn0032414	<i>CG17211</i>	-1.98	-1.05
FBgn0015541	<i>sda</i>	-2.66	-1.04
FBgn0000721	<i>for</i>	-0.97	-1.02
FBgn0023001	<i>melt</i>	-1.08	-1.00
FBgn0000568	<i>Eip75B</i>	-1.50	-1.00
FBgn0038720	<i>CG6231</i>	-1.33	-0.99
FBgn0020304	<i>drongo</i>	-0.78	-0.92
FBgn0265276	<i>l(3)meo38</i>	-0.89	-0.90
FBgn0033872	<i>CG6329</i>	-0.86	-0.88
FBgn0037960	<i>mthl5</i>	-1.24	-0.88
FBgn0035142	<i>hipk</i>	-0.89	-0.87
FBgn0037290	<i>CG1124</i>	-1.45	-0.86
FBgn0000579	<i>Eno</i>	-0.91	-0.84
FBgn0003435	<i>sm</i>	-1.45	-0.84
FBgn0034606	<i>ASPP</i>	-1.43	-0.84
FBgn0034644	<i>CG10082</i>	-1.15	-0.80
FBgn0036202	<i>CG6024</i>	-2.31	-0.79
FBgn0031213	<i>galectin</i>	-1.64	-0.77
FBgn0261800	<i>LanB1</i>	-0.76	-0.77
FBgn0261560	<i>Thor</i>	-1.65	-0.75
FBgn0052264	<i>CG32264</i>	-1.00	-0.74
FBgn0086779	<i>step</i>	-0.94	-0.74
FBgn0035246	<i>CG13928</i>	-1.39	-0.73
FBgn0037134	<i>CG7407</i>	-0.87	-0.71
FBgn0265487	<i>mbl</i>	-1.13	-0.71
FBgn0032377	<i>CG14937</i>	-1.30	-0.70
FBgn0035431	<i>CG14968</i>	-0.80	-0.70
FBgn0037731	<i>CG18542</i>	-0.82	-0.69
FBgn0010497	<i>dmGlut</i>	-0.81	-0.68
FBgn0031703	<i>CG12512</i>	-1.30	-0.66
FBgn0261954	<i>east</i>	-0.82	-0.64
FBgn0038020	<i>GstD9</i>	-1.92	-0.62
FBgn0037007	<i>CG5059</i>	-1.20	-0.61
FBgn0012036	<i>Aldh</i>	-1.06	-0.61
FBgn0035696	<i>Best2</i>	-2.02	-0.59
FBgn0026315	<i>Ugr35a</i>	-1.08	-0.56
FBgn0035499	<i>Chd64</i>	-0.77	-0.55
FBgn0003231	<i>reff(2)P</i>	-0.85	-0.52
FBgn0037659	<i>Kdm2</i>	-1.28	-0.52
FBgn0030797	<i>CG13004</i>	-1.75	-0.48
FBgn0023388	<i>Dap160</i>	-0.98	-0.46
FBgn0051140	<i>CG31140</i>	-1.42	-0.21

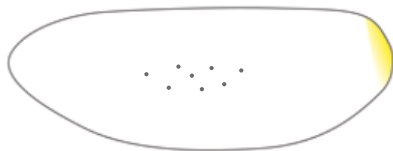
a 始原生殖細胞と胚全体における発現量の比の順に表示した。

図1 ショウジョウバエの胚発生過程の模式図

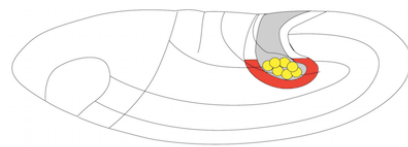
胚は左側が前極、上側が背側となるように並べてある。胚発生過程はステージ17で完了する。極細胞質および始原生殖細胞を黄色、中腸原基および中腸を赤色、生殖巣を構成する中胚葉性細胞を緑色で示す。

- ステージ2 胚の後極に極細胞質が局在する。卵黄内で核分裂が進行する。
- ステージ3 核が胚の表層へと移動する。極細胞質に侵入した核を中心として極細胞芽が形成される。
- ステージ4 胚の後極に始原生殖細胞が形成される。
- ステージ5 体細胞領域の核の間に細胞膜が形成され、細胞化する。始原生殖細胞は胚の後極に留まる。
- ステージ8 ステージ6で中腸原基の陥入が開始すると、始原生殖細胞はその陥入に伴って胚体内に移動し、ステージ8では中腸原基の袋の中に位置する。
- ステージ10 ステージ9から10にかけて、始原生殖細胞は中腸原基の壁を通過する。
- ステージ12 始原生殖細胞は生殖巣を構成する中胚葉性細胞と接したまま胚の前方へ移動する。
- ステージ14 始原生殖細胞は、生殖巣を構成する中胚葉性細胞とともに集合し、左右一対の生殖巣を形成する。

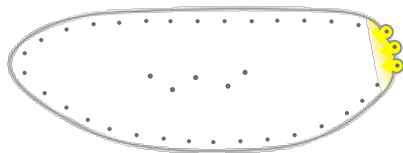
ステージ2



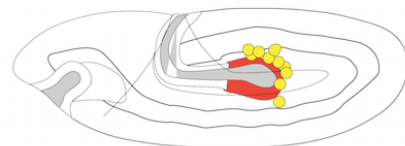
ステージ8



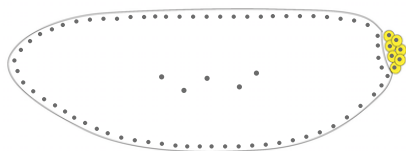
ステージ3



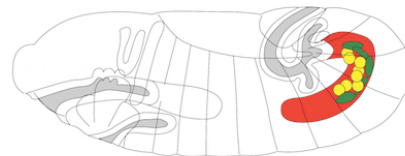
ステージ10



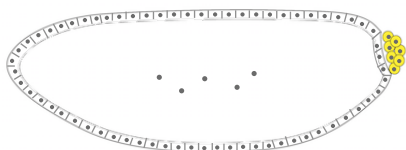
ステージ4



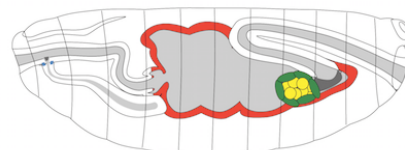
ステージ12



ステージ5



ステージ14



ATLAS of *Drosophila* DEVELOPMENT, Volker Hartensteinより引用、改変

図 2 *ovo* 遺伝子の構造

ovo 遺伝子は *ovo-A*、*ovo-B*、*svb* の 3 種類の mRNA をコードする (Mével-Ninio et al., 1995)。box の部分は exon を、直線の部分は intron を示す。淡青の box はタンパク質コード領域、濃青の box は DNA 結合性 Zn フィンガー・モチーフを示す。*ovoA-Nterm-EGFP* 系統および *ovoB-Nterm-EGFP* 系統に挿入した EGFP の位置を緑で示した。詳細な塩基配列は材料および方法、図 4 に記す。

ovo gene

ovoA-Nterm-EGFP *ovoB*-Nterm-EGFP

1kb

ovo-A

ovo-B

svb

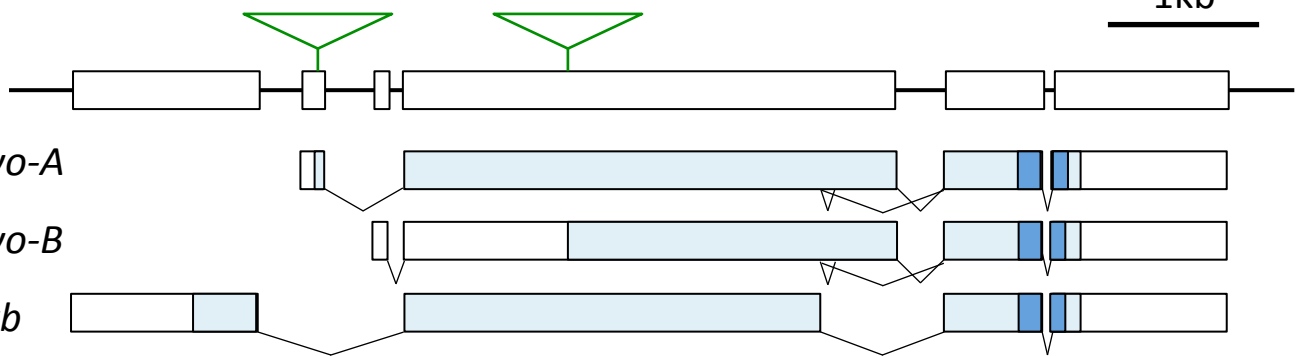


図3 gRNA 発現ベクターの作成

ovoA gRNA 系統および ovoB gRNA 系統の作成に使用した gRNA 発現ベクターの作成手順を示す。

- ① Ovo-A と Ovo-B それぞれの開始メチオニンコドンの近傍のゲノム配列から標的配列を選定する。選定した標的配列 を下線で、開始メチオニンを指定するコドンをおレンジで示す。
- ② pBFv-U6.2 を *Bbs* I で制限酵素処理したときの突出末端である CTTC または AAAC を標的配列に付加した配列をオリゴヌクレオチドとして合成する。合成したオリゴマー同士をアニーリングさせる。
- ③ pBFv-U6.2 を *Bbs* I で制限酵素処理し、アニーリングさせた標的配列のオリゴマーをライゲーションする。標的配列が挿入される近傍の pBFv-U6.2 塩基配列のうち、*Bbs* I の認識配列を灰色（切断される箇所を▼）、U6 プロモータ領域を青、標的配列を緑、挿入された標的配列と連続し gRNA を構成する配列を赤で示す。

gRNA発現ベクターの作成

① 標的配列 (sgRNA) の選定

...AGCAAATGAACGTCAACAAAAATGATCTTCGTAAGAATATCCGAGAGAGGGCGCTT...
 Ovo-A開始メチオニンコドン

...CGGTGGCGGTGGTGGTATGGCGGTGGTCGCGACGGCCGAGGGAACACTACGGACCCA...
 Ovo-B開始メチオニンコドン

② オリゴヌクレオチドの合成とアニーリング

ovoA Nterminal sgRNA F: 5'-CTTCTCGTAAGAATATCCGAGAGA-3' 5' -CTTCTCGTAAGAATATCCGAGAGA-3'
 ovoA Nterminal sgRNA R: 5'-AAACTCTCTCGGATATTCTTACGA-3' 3' -AGCATTCTTATAGGCTCTCTCAA-5'

ovoB Nterminal sgRNA F: 5'-CTTCGGTATGGGCGGTGGTCGCGA-3' 5' -CTTCGGTATGGGCGGTGGTCGCGA-3'
 ovoB Nterminal sgRNA R: 5'-AAACTCGCGACCACCGCCCATACC-3' 3' -CCATACCCGCCACCAGCGCTCAA-5'

③ *Bbs* I で制限酵素処理したpBFv-U6.2にオリゴマーをライゲーション

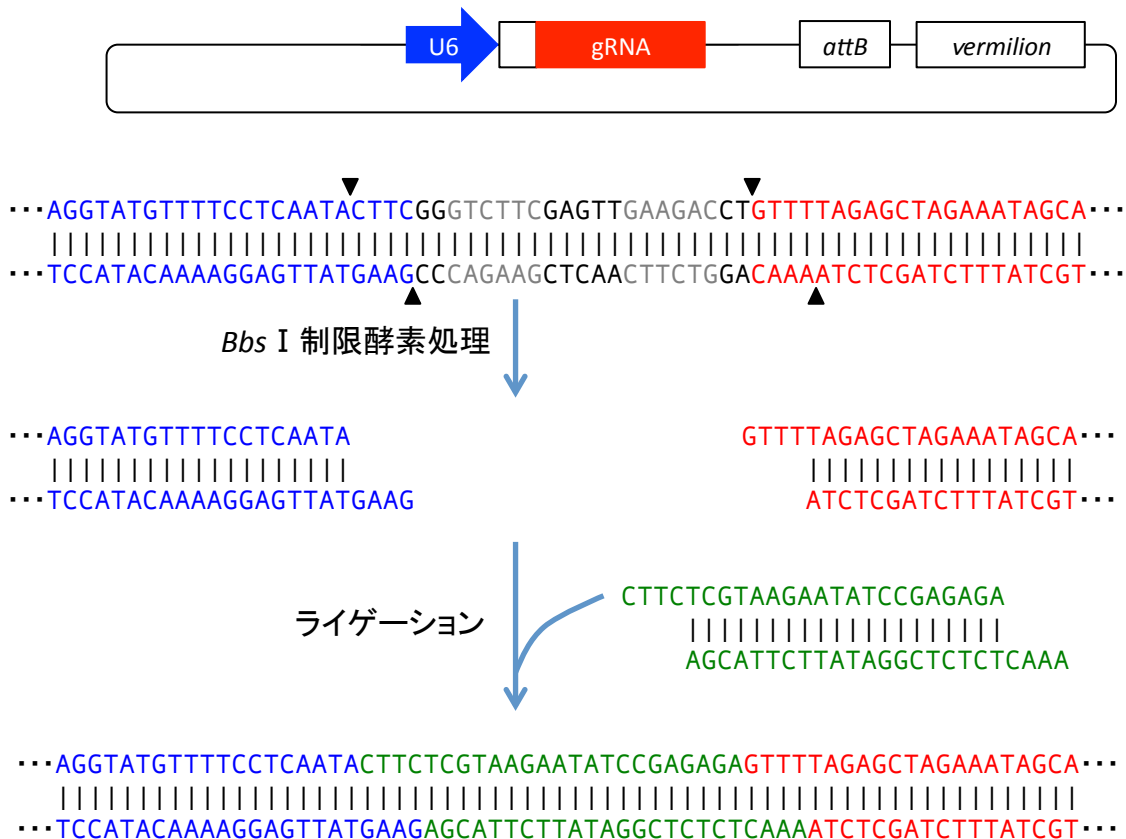


図 4 EGFP ノックイン系統の作成

CRISPR / Cas9 による EGFP ノックインのために作成した、ノックインコンストラクトの gRNA 標的配列とその近傍の塩基配列を示す。開始メチオニンコドンをおранже、gRNA 標的配列を下線、Cas9 による DNA 切断点を▼で示す。EGFP 配列が挿入されたのち、再び CRISPR / Cas9 による切断を受けないよう置換した塩基を赤で示す。詳細な EGFP ノックインコンストラクトの作成方法は材料および方法に記す。

作成した EGFP ノックインコンストラクトは、生殖系列で Cas9 および gRNA を発現する胚の後極にインジェクションした。この胚の生殖系列では、Cas9 と gRNA の複合体により切断されたゲノムを修復するため、相同組み換え機構が働き、ゲノムとノックインコンストラクトの間で組み換えが起こり、EGFP が挿入される。

図 5 OvoA の過剰発現による Ovo-B の機能阻害実験の概要

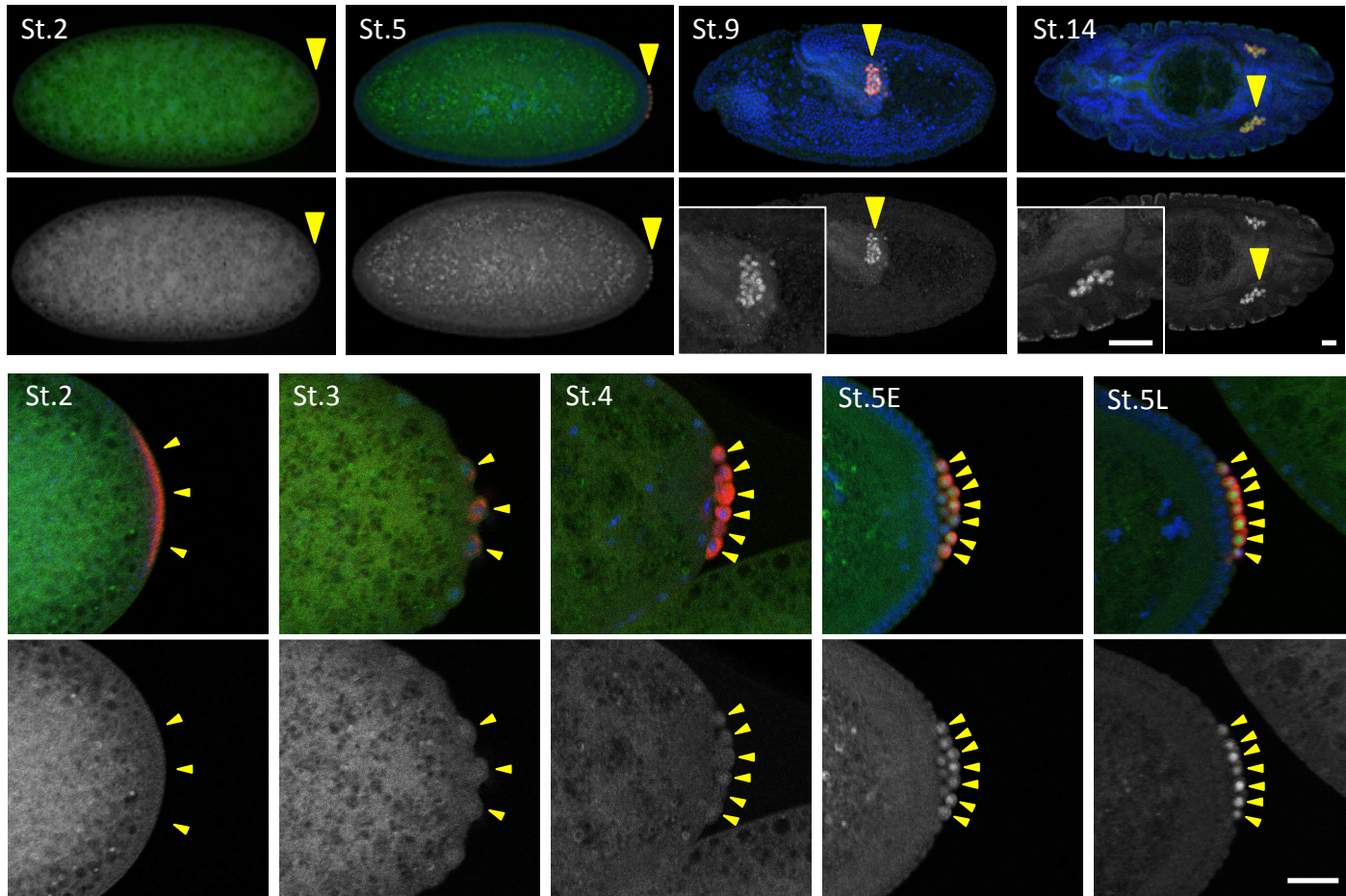
(A, B) 先行研究および本研究でおこなった Ovo-A の過剰発現による Ovo-B の機能阻害実験に用いた胚を得るための交配を示す。B においては、*nanos-Gal4-VP16* ヘテロ接合体のメスと *UASp-ovoA* ホモ接合体のオスを交配して得られた YFP 陽性の子孫（母性 *nanos-Gal4* のみを持つ）について表現型を観察した。また、コントロールとして *UASp-ovoA* の代わりに *y w* 系統オスと交配して得られた YFP 陽性の子孫の表現型を観察した。

(C) 先行研究と本研究において生殖巣に含まれる生殖系列の細胞数をカウントしたタイムポイントを矢印で示す。始原生殖細胞において母性および胚性 Ovo タンパク質が発現する期間を緑の box で示す。また、Ovo-A の過剰発現による Ovo-B の機能阻害の期間をオレンジ色の box で表示した。ステージ 11 までの始原生殖細胞においても母性 *nos-GAL4-VP16* が含まれていると考えられるが、始原生殖細胞において RNA 合成酵素 II の活性が抑制されているため (Hanyu-Nakamura et al., 2009)、胚性の転写は活性化しない。

図 6 胚発生過程の始原生殖細胞における Ovo-EGFP タンパク質の発現

ovoB-Nterm-EGFP (A)、*ovoA-Nterm-EGFP* (B) 系統の胚発生各ステージの胚に対して、抗 GFP 抗体 (緑)、抗 Vasa 抗体 (赤)、DNA 染色 (青) の免疫染色をおこなった結果を上段に、下段に Ovo-EGFP シグナルのグレースケール像を示し、始原生殖細胞が含まれる領域の拡大図を挿入した。スケールバーは 20 μ m。極細胞質、極細胞芽、始原生殖細胞を黄色の矢頭で示した。

A *OvoB-Nterm-EGFP*系統の胚におけるOvo-EGFPタンパク質の発現



B *OvoA-Nterm-EGFP*系統の胚におけるOvo-EGFPタンパク質の発現

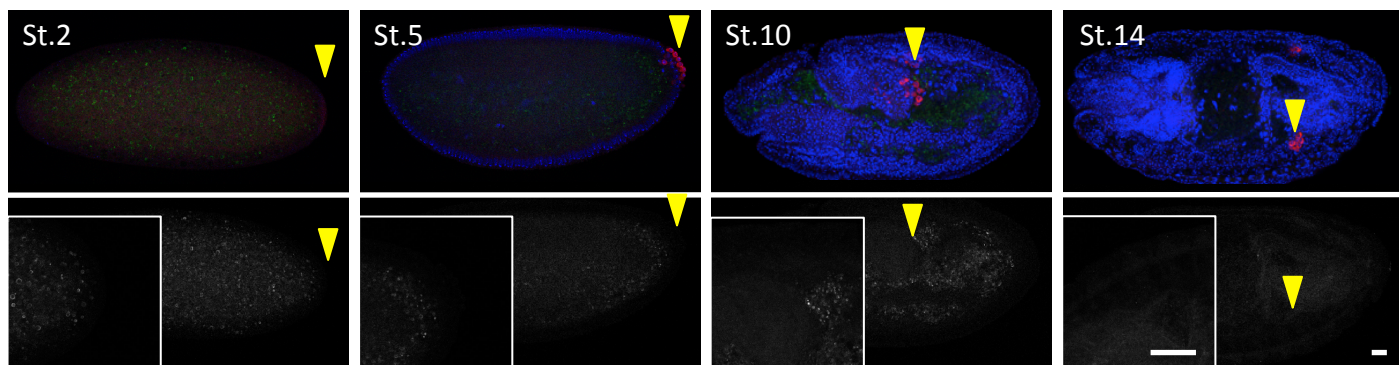
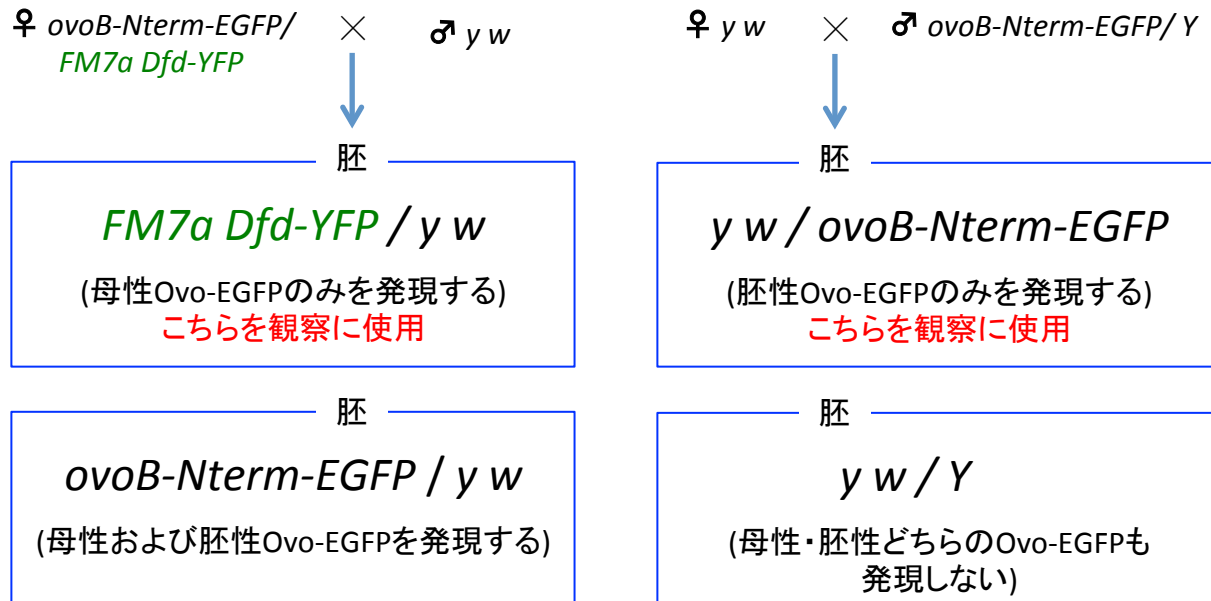


図7 胚発生過程の始原生殖細胞における母性および胚性 Ovo-EGFP タンパク質の発現

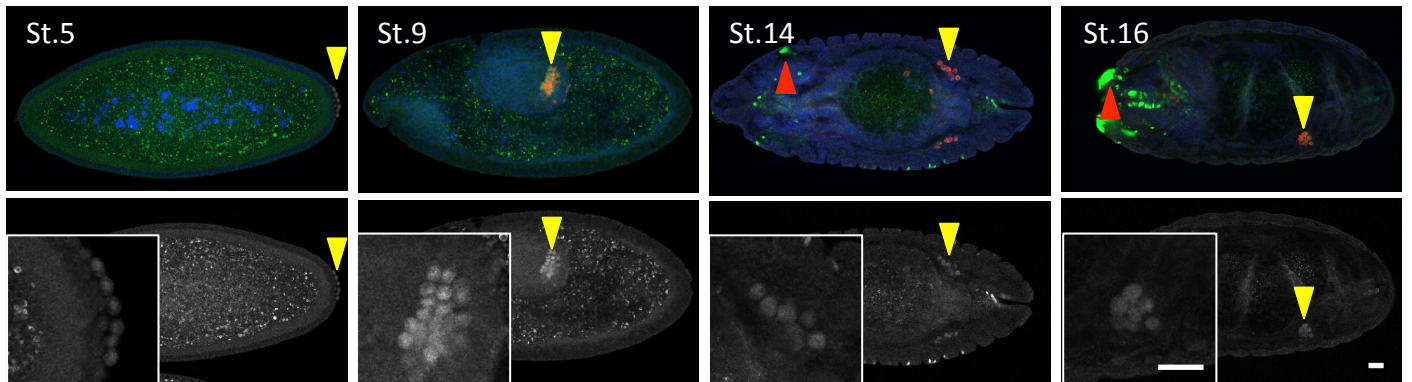
(A)母性 Ovo-EGFP のみを発現する胚、胚性 Ovo-EGFP のみを発現する胚を得るための交配を示す。

(B, C) 母性 Ovo-EGFP のみを発現する胚 (B)、胚性 Ovo-EGFP のみを発現する胚 (C) を示す。胚発生後期における母性 Ovo-EGFP のみを発現する胚は、頭部に発現する YFP (赤矢頭) により判別した。各胚に対して、抗 GFP 抗体 (緑)、抗 Vasa 抗体 (赤)、DNA 染色 (青)の免疫染色の結果と、下段に Ovo-EGFP シグナルをグレースケールで示し、始原生殖細胞を含む領域の拡大図を挿入した。スケールバーは 20 μ m。始原生殖細胞を黄矢頭で示した。

A 母性Ovo-EGFPおよび胚性Ovo-EGFPを発現する胚を得るための交配



B 母性Ovo-EGFPタンパク質の発現



C 胚性Ovo-EGFPタンパク質の発現

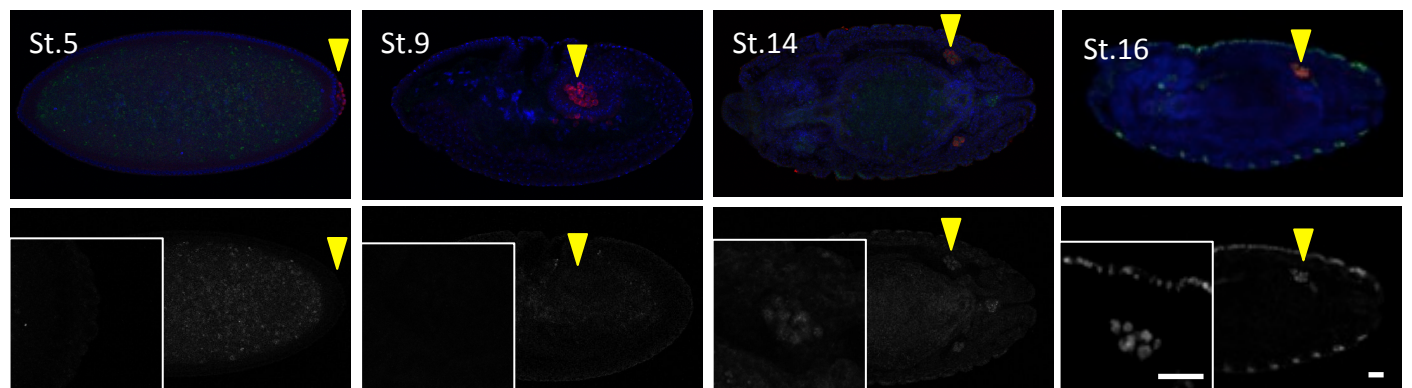


図 8 Ovo-A 過剰発現により母性 Ovo-B 機能を阻害したときの生殖系列の細胞数の変化

Ovo-A の過剰発現により始原生殖細胞における母性 Ovo-B の機能を阻害した実験群 (赤)、およびコントロール群 (青) における生殖巣中の生殖系列の細胞数をヒストグラムとして示す。図中の n は観察した生殖巣の数を示す。始原生殖細胞において Ovo-A を過剰発現させる胚、およびコントロール胚を得るための交配については図 5 B に示す。

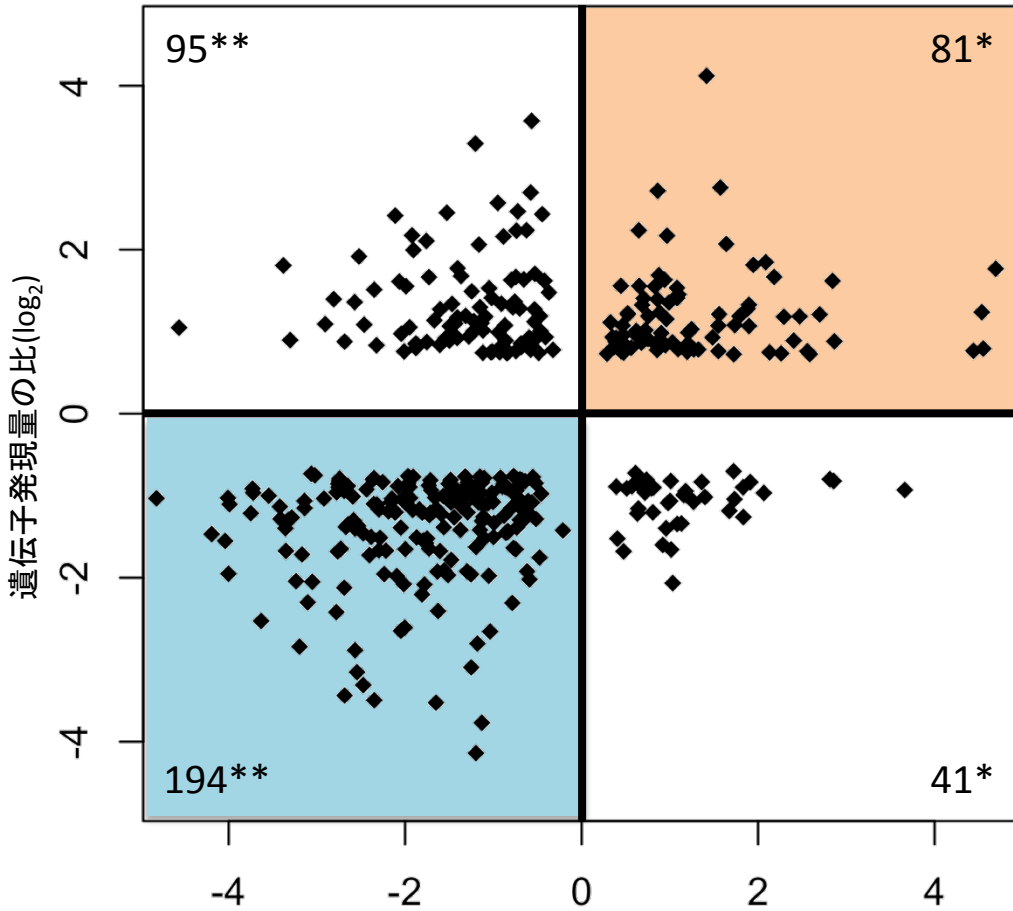
図9 母性 Ovo-B 下流遺伝子の始原生殖細胞と胚全体における発現量比

母性 Ovo-B の下流遺伝子について、ステージ 15 の胚全体に比べて始原生殖細胞で有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に高発現する遺伝子を PGC-enriched genes、逆にステージ 15 の始原生殖細胞に比べて胚全体で有意に高発現する遺伝子を soma-enriched genes として選別した (詳細は材料および方法に示す)。これら遺伝子の始原生殖細胞における発現量と胚全体における発現量の比を横軸に示した。また、Ovo-B の機能阻害によって有意 ($q\text{-value} < 0.05$) に発現が変化した遺伝子について、正常な始原生殖細胞における発現量と Ovo-B の機能阻害をした始原生殖細胞における発現量の比を縦軸に示した。母性 Ovo-B により発現が促進される PGC-enriched genes がプロットされる象限をオレンジ色の背景で、逆に、母性 Ovo-B により発現が抑制される Soma-enriched genes がプロットされる象限を青色の背景で示す。図中の数字は、各象限にプロットされた遺伝子の数を示す。母性 Ovo-B により発現が促進される遺伝子数と抑制される遺伝子数 (354:459) と、PGC-enriched genes のうち母性 Ovo-B により発現が促進される遺伝子数と促進されない遺伝子数 (81:41) を Fisher's exact test を用いて有意差検定をした ($p < 0.01$)。また同様に、Soma-enriched genes (194:95)についても、有意差検定をおこなった ($p < 0.01$)。

Ovo-Bに抑制される
遺伝子

Ovo-Bに促進される
遺伝子

正常な始原生殖細胞 / Ovo-Bの機能を阻害した始原生殖細胞の



始原生殖細胞 / 胚全体の遺伝子発現量の比(log₂)

Soma-enriched genes

PGC-enriched genes

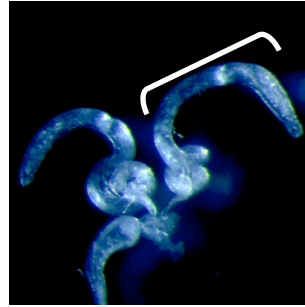
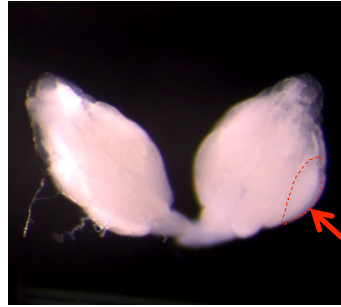
図 10 母性 Ovo-B 下流遺伝子 *hoip*, *BigH1*, *piwi*, *ebd1* の機能解析

UAS-dicer2; nanos-Gal4-VP16 ホモ接合メスと *hoip* RNAi 系統ホモ接合オスを交配し生殖系列特異的に機能を阻害した個体の成虫生殖巣、および *nanos-Gal4-VP16* ホモ接合メスと *BigH1*, *piwi*, *ebd1* RNAi 系統ホモ接合オスを交配し生殖系列特異的に機能を阻害した個体の成虫生殖巣を示す。これら実験群に対するコントロールとして、*nanos-Gal4-VP16* ホモ接合体メスと *yw* 系統オスを交配して得られた個体の成虫生殖巣を示す。正常な卵巣中の成熟卵母細胞を赤矢印で示した。成熟卵母細胞を含まない卵巣を黄矢印で示した。また、正常な精巣および機能阻害により萎縮した精巣をブラケットで示した。

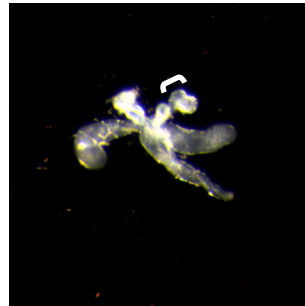
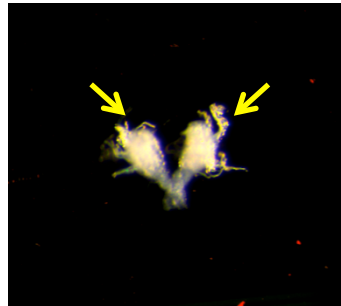
卵巢

精巢

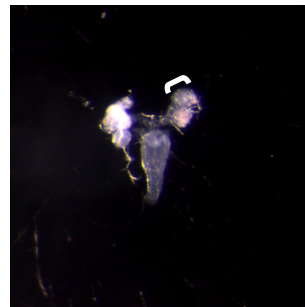
Control



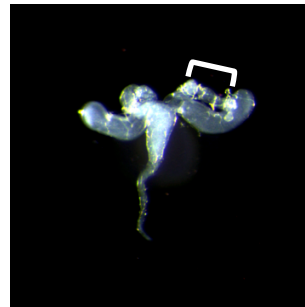
hoip RNAi



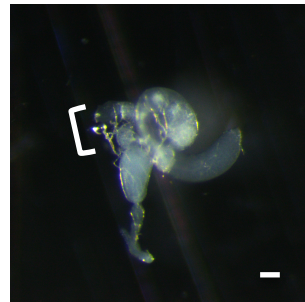
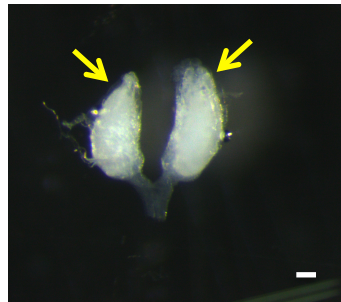
BigH1 RNAi



piwi RNAi



ebd1 RNAi



Bar=100μm

Bar=100μm

図 11 母性 *Ovo-B* 下流遺伝子の機能解析

生殖系列特異的に母性 *Ovo-B* 下流遺伝子の機能を阻害した個体を解剖し、3 つ以下の成熟卵母細胞しか含まない卵巣、正常な精巣に比べて全長が 50%以下に萎縮した精巣を異常な生殖巣としてカウントした。実験には *nanos-Gal4-VP16* または *UAS-dicer2; nanos-Gal4-VP16* ホモ接合メスと RNAi 系統ホモ接合オスの交配により得られた個体を使用した。図中の *n* は観察した生殖巣の数を示す。Fisher's exact test により有意差検定をおこない、異常な生殖巣が有意に多く観察された遺伝子をアスタリスクで示した ($p < 0.01$)。

母性Ovo-B下流遺伝子の機能阻害により観察された異常な生殖巣の割合

