

Conditional knockdown of *Nanog* induces apoptotic cell death in mouse migrating primordial germ cells

Shinpei Yamaguchi¹, Kazuki Kurimoto², Yukihiko Yabuta², Hiroyuki Sasaki³, Norio Nakatsuji^{4,5}, Mitinori Saitou^{2,*} and Takashi Tada^{1,6,†,‡}

¹Stem Cell Engineering, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan. ²Laboratory for Mammalian Germ Cell Biology, RIKEN Center for Developmental Biology, 2-2-3 Minatojima-Minamimachi, Chuo-ku, Kobe 650-0047, Japan. ³Department of Integrated Genetics, National Institute of Genetics, Research Organization of Information and Systems, 1111 Yata, Mishima-shi, Shizuoka 411-8540, Japan. ⁴Development and Differentiation, Institute for Frontier Medical Sciences, Kyoto University, 53 Kawahara-cho, Shogoin, Sakyo-ku, Kyoto 606-8507, Japan. ⁵Institute for Integrated Cell-Material Sciences (iCeMS), Kyoto University, Kyoto 606-8501, Japan. ⁶JST, CREST, 4-1-8 Hon-cho, Kawaguchi, Saitama 332-0012, Japan.

(要約)

多能性因子である*Nanog*は着床頃の胚と始原生殖細胞で発現している。*Nanog*を欠損したマウスの胚は着床後すぐに死に至る。生殖細胞における*Nanog*の機能を解明するために、shRNAを用いて、*Nanog* RNAを*in vivo*で条件的にノックダウンした。*Nanog* shRNAを発現する遺伝子(NRi-Tg)を組み込んだES細胞を用いて生殖系列キメラを形成し、*Nanog* shRNAを発現するトランスジェニックマウスを作製した。タモキシフェンによって誘導したCre発現マウスとNRi-Tgマウス、またTNAPプロモーターにより始原生殖細胞特異的に発現するCre発現マウスとNRi-Tgマウスの胎生12.5日におけるダブルトランスジェニック胚で、アルカリフォスファターゼポジティブ、SSEA1ポジティブの始原生殖細胞の数がかなり減少した。胎生9.5,10.5日における移動中の*Nanog*ノックダウン始原生殖細胞では、*Oct4*が発現しているにも関わらず、TUNELポジティブなアポトーシスによる細胞死が*in vivo*,*in vitro*共に顕著であった。胎生10.5日の*Nanog*ノックダウン始原生殖細胞でSingle cell microarray解析を行ったところ、*Tial1*,*Id1*,*Suz12*を含むかなりの数の遺伝子の発現が上昇または減少することが明らかになった。これらのデータは、*Nanog*は始原生殖細胞特異的な分子ネットワークの保護として、移動中の始原生殖細胞の増殖、生存に重要な役割を果たしていることを示唆している