

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 16日現在

機関番号：17102

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007～2012

課題番号：19061001

研究課題名（和文） 生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク

研究課題名（英文） The Germline: Its Developmental Cycle and Epigenome Network

研究代表者

佐々木 裕之 (SASAKI HIROYUKI)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：30183825

研究成果の概要（和文）：

特定領域研究「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」の総括班として、1) 生殖系列の分化決定機構、2) 配偶子形成・減数分裂とエピゲノムネットワーク、3) 受精・初期胚におけるエピゲノム変化と発生能の3つの研究項目を推進した。その結果、多能性幹細胞から始原生殖細胞を誘導することに成功したほか、クローンマウスにおける性染色体不活性化の異常の発見、生殖細胞におけるエピゲノム制御ネットワークの解明などの成果があり、公開シンポジウムや国際シンポジウム（合計5回）で情報発信を行なった。また、4回の若手勉強会を開催して研究者育成に努めた。

研究成果の概要（英文）：

As the management team of the Grants-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas titled “The Germline: Its Developmental Cycle and Epigenome Network”, we organized various scientific and social activities and promoted three major research projects: 1) cell fate determination for germline development; 2) epigenomic regulation in gametogenesis and meiosis; 3) epigenomic reprogramming in fertilization and early development. Our major scientific outcomes are: in vitro induction of primordial germ cells from pluripotent stem cells; discovery and correction of aberrant X-chromosome inactivation in cloned mice; dissection of the epigenomic regulatory networks in germ cells. To share the latest research results with the community, we made a website in Japanese and English and hosted four domestic and one international symposium. We also supported young scientists’ forum.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	9,200,000	0	9,200,000
2008年度	9,200,000	0	9,200,000
2009年度	9,200,000	0	9,200,000
2010年度	18,400,000	0	18,400,000
2011年度	9,200,000	0	9,200,000
2012年度	9,200,000	0	9,200,000
総計	64,400,000	0	64,400,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物化学・発生生物学

キーワード：発生・分化、発現制御、生殖細胞、エピゲノム、リプログラミング

1. 研究開始当初の背景

生殖細胞系列は生物個体をかたち作る

さまざまな細胞のなかで唯一次世代へ遺伝情報を伝達することのできる細胞系列である。この生命の根源ともいえる細胞を生み出して機能させるため、生物は各世代において生殖細胞系列への運命決定、雌雄生殖細胞の特徴づけ、減数分裂と卵子や精子の形成、受精と発生能の獲得といったサイクルを連続とくり返す。

一方、近年の研究により生殖細胞系列の分化や機能にはゲノムのみならずエピゲノムの制御が重要であることが分かってきた。エピゲノムの重要性の発見には我が国の研究者が大きな役割を果たした。そこで、生命の糸を紡ぐ生殖系列の世代サイクルの分子基盤であるゲノムとエピゲノムの制御ネットワークを明らかにし、我が国の生殖細胞研究を一層推進することを目的として、特定領域研究「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」を立ち上げた。

2. 研究の目的

特定領域研究「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」の研究を推進するために総括班を組織し、様々な支援活動を行う。すなわち、本研究の目的は15名の計画研究代表者と約20名の公募研究代表者が自由な発想のもと調和の取れた研究活動を展開できるよう、領域の総括、評価、交流、広報、若手の育成のための活動を行い、領域のスムーズな運営を図ることである。

3. 研究の方法

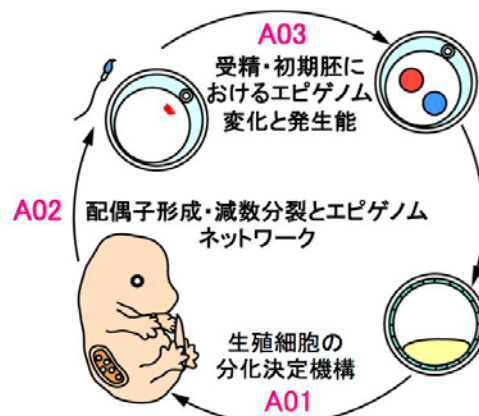
総括班には領域代表者のほか、計画研究代表者から事務担当1名、広報担当1名、企画調整担当3名を置き、領域外の評価担当(研究協力者)を小原雄治(国立遺伝学研究所)、相賀裕美子(国立遺伝学研究所)、田賀哲也(東京医科歯科大学)、高木信夫(北星学園)、角田幸雄(近畿大学)、諸橋憲一郎(九州大学)の6名の先生方をお願いした。具体的な推進策として、1)総括班会議の開催、2)公開シンポジウムの開催(国際シンポジウム含む)、3)若手勉強会の支援、4)研究活動の広報、5)研究内容の評価などの活動を行った。

4. 研究成果

本領域の研究は、研究項目A01「生殖系列の分化決定機構」、A02「配偶子形成・減数分裂とエピゲノムネットワーク」、およびA03「受精・初期胚におけるエピゲノム変化と発生能」を設定して推進した。その結果、多能性幹細胞から始原生殖細胞を誘導することに成功したほか、クローンマウスにおける性染色体不活性化の異常の発見、生殖細胞におけるエピゲノム制御ネットワークの解明などの優れた成果があった。また、雌雄の

生殖細胞の特徴づけ、減数分裂におけるエピゲノムの役割、受精のメカニズムの解明に関して成果があった。受精後のリプログラミング因子の同定は非常に困難なテーマであることが分かったが、世界的に見るとDNA脱メチル化に関わるとされるTETファミリー蛋白質の同定があり、本領域ではむしろ特定の配列にリプログラミング抵抗性を付与する因子の同定に優れた成果があった。以上の成果はいずれも一流の国際科学ジャーナルに掲載され、Cell誌に1報、Nature誌に4報、Science誌に3報の論文を発表することができた(いずれも領域内の研究者が責任著者)。

領域内の連携については、計画研究の原著論文の31%が領域内共同研究によるものであったことから、特定領域研究の意義を十分に実現したと考えている。また、その2分の1が研究項目を越えた領域内



共同研究であり、各研究項目の連携状況も極めて良好であったといえる。公募研究を加えた全班員の原著論文では22%が領域内共同研究であった。

本領域の成果は幅広い波及効果をもつと考えられ、たとえばクローン技術をはじめとする発生工学技術の向上、産業動物育種技術の改善、幹細胞生物学や再生医療の発展、不妊・流産・先天異常の解明、生殖補助医療の改善などへの大きな貢献が期待される。

研究成果の公表は日本語および英語のホームページを通して行ったほか、5回の公開シンポジウム(うち1回は国際シンポジウム)、1回の市民公開講座(最終年度に京都で開催)による成果発信も行なった。ホームページではインパクトファクターが10を越える雑誌に掲載された論文20報についての解説記事を掲載した。平成22年11月に福岡で開催した国際シンポジウムでは、John B. Gurdon先生(2012年ノーベル医学生理学賞受賞)とM. Azim Surani先生による特別講演を含む3日間の研究交流を行なった。おふたり

の先生からは本領域に対し「日本が世界の生殖細胞研究を牽引している」との非常に高い評価をいただいた。この国際シンポジウムの内容は、*Differentiation* 誌の symposium report で紹介された (*Differentiation* 81, 217-221 (2011))。さらに情報発信の一環として、「実験医学」(平成21年2月号)特集：生殖細胞サイクル(企画：松居靖久)に5つの研究室が総説を発表した。

これ以外の総括班活動としては、特定領域研究「性分化」と合同の領域会議を1回開催して研究交流を行なったほか、領域内の若手研究者が企画した4回の「生殖サイクル若手勉強会」を支援し、研究者の育成にも努めた。

本研究費で支援された総括班は研究活動を行わないため、次項「5. 主な発表論文等」には領域全体の業績の件数と、そのうち代表的な論文のみを記す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計479件)

(本領域の代表的な論文9件を下に記す)

- (1) Hayashi, K., Ogushi, S., Kurimoto, K., Shimamoto, S., Ohta, H., Saitou, M. Offspring from oocytes derived from in vitro primordial germ cell-like cells in mice. *Science* 338, 971-975 (2012). doi: 10.1126/science.1226889.
- (2) Nakamura, T., Liu, Y.U., Nakashima, H., Umehara, H., Inoue, K., Matoba, S., Tachibana, M., Ogura, A., Shinkai, Y., Nakano, T. PGC7 binds histone H3K9me2 to protect against conversion of 5MeC to 5HmC in early embryos. *Nature* 486, 415-419 (2012). doi: 10.1038/nature11093.
- (3) Hayashi, K., Ohta, H., Kurimoto, K., Aramaki, S., Saitou, M. Reconstitution of the mouse germ cell specification pathway in culture by pluripotent stem cells. *Cell* 146, 519-532 (2011). doi: 10.1016/j.cell.2011.06.052.
- (4) Watanabe, T., Tomizawa, S., Mitsuya, K., Totoki, Y., Yamamoto, Y., Kuramochi-Miyagawa, S., Iida, N., Hoki, Y., Murphy, P.J., Toyoda, A., Gotoh, K., Hiura, H., Arima, T., Fujiyama, A., Sado, T., Shibata, T., Nakano, T., Lin, H., Ichiyanagi, K., Soloway, P.D., Sasaki, H. Role for piRNAs and non-coding RNA in de novo DNA methylation of the imprinted mouse

Rasgrfl locus. *Science* 332, 848-52 (2011).

doi: 10.1126/science.1203919.

- (5) Inoue, K., Kohda T., Sugimoto, M., Sado T., Ogonuki, N., Matoba, S., Shiura, H., Ikeda, R., Mochida, K., Fujii, T., Sawai, K., Otte, A.P, Tian, X.C., Yang, X., Ishino, F., Abe, K., Ogura, A. Impeding Xist expression from the active X chromosome improves mouse somatic cell nuclear transfer. *Science* 330, 496-499 (2010). doi: 10.1126/science.1194174.
- (6) Matsui, T., Leung, D., Miyashita, H., Maksakova, I.A., Miyachi, H., Kimura, H., Tachibana, M., Lorincz, M.C., Shinkai, Y. Proviral silencing in embryonic stem cells requires the histone methyltransferase ESET. *Nature* 464, 927-931 (2010). doi: 10.1038/nature08858.
- (7) Saito, K., Inagaki, S., Mituyama, T., Kawamura, Y., Ono, Y., Sakota, E., Kotani, H., Asai, K., Siomi, H., Siomi, MC. A regulatory circuit for piwi by the large Maf gene traffic jam in *Drosophila*. *Nature* 461, 1296-1299 (2009). doi: 10.1038/nature08501.
- (8) Watanabe, T., Totoki, Y., Toyoda, A., Kaneda, M., Kuramochi-Miyagawa, S., Obata, Y., Chiba, H., Kohara, Y., Kono, T., Nakano, T., Surani, M.A., Sakaki, Y., Sasaki, H. Endogenous siRNAs from naturally formed dsRNAs regulate transcripts in mouse oocytes. *Nature* 453, 539-543 (2008). doi: 10.1038/nature06908.

(下記は福岡で開催した国際シンポジウムの内容を紹介したレポート)

- (9) Chuva de Sousa Lopes SM, Roelen BA. The way of the germline: its developmental cycle and epigenome network. *Differentiation* 81, 217-221 (2011). doi: 10.1016/j.diff.2011.02.003.

[図書] (計47件)

(本領域の代表的な図書5件を下に記す)

- (1) Kurimoto, K. and Saitou, M. A global single-cell cDNA amplification method for quantitative microarray analysis. In "PCR Protocols 3rd edition" Ed. by Danny Park (Humana

- Press, USA), Methods in Molecular Biology, 687, 91-111 (2011).
- (2) Kanatsu-Shinohara, M. and Shinohara, T. Germline modification using mouse spermatogonial stem cells. Methods Enzymol. 477, 17-36 (2010).
- (3) Kishigami, S. and Wakayama, T. Somatic cell nuclear transfer in the mouse. In "Microinjection: Methods and Applications Ed. by David J. Carroll (Humana Press, USA), Methods in Molecular Biology 518, 207-218 (2009).
- (4) 青木不学、小倉淳郎、河村和弘、斎藤通紀、河野友宏、佐々木裕之、田中智、松居靖久 「卵子学」(森 崇英・総編集) 京都大学学術出版会 (2011).
- (5) 若山照彦 「クローンマンモスへの道-クローン技術最前線の技術における発生・再生医療技術を探る」(単著),1-80,アドスリー社 (2009).

[産業財産権]

○出願状況 (計 18 件)

○取得状況 (計 2 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.brc.riken.go.jp/lab/mcd/germline/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐々木 裕之 (SASAKI HIROYUKI)

九州大学・生体防御医学研究所・教授

研究者番号：30183825

(2)研究分担者 (事務担当)

松居 靖久 (MATSUI YASUHISA)

東北大学・加齢医学研究所・教授

研究者番号：40241575

(3)連携研究者 (広報、企画調整担当)

阿部 訓也 (ABE KUNIYA)

独立行政法人理化学研究所・動物変異動態解析技術開発チーム・チームリーダー

研究者番号：40240915

小倉 淳郎 (OGURA ATSUO)

独立行政法人理化学研究所・遺伝工学基盤技術室・室長

研究者番号：20194524

中辻 憲夫 (NAKATSUJI NORIO)

京都大学・物質-細胞統合システム拠点・教授

研究者番号：80237312

仲野 徹 (NAKANO TORU)

大阪大学・生命機能研究科・教授

研究者番号：00172370