

機関番号：12601

研究種目：特定領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20062002

研究課題名（和文） 卵および初期胚における遺伝子発現リプログラミングの調節機構

研究課題名（英文） Regulation of genome reprogramming in the oocytes and early embryos.

研究代表者

青木 不学 (AOKI FUGAKU)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：20175160

研究分野：発生生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：卵、初期胚、リプログラミング、エピジェネティクス

1. 研究計画の概要

生命の誕生は、分化した精子と卵子が接合し、全能性を持つ受精卵を生じることから始まる。そして、その際に遺伝子発現のリプログラミングが起こると考えられているが、そのメカニズムについては現在までのところほとんど知見が得られておらず、本研究の目的はこれを明らかにすることである。

この目的のため、本研究では、転写制御機構の変化に着目し研究を進める予定である。すなわち、転写の制御に重要な働きをしている転写因子およびエピジェネティック因子の変化を調べることで遺伝子発現リプログラミングの実態を明らかにしようという研究戦略である。エピジェネティック因子として、クロマチンを構成するヒストンのメチル化やアセチル化、さらにはヒストン変異体の置換などを解析のターゲットとする。

2. 研究の進捗状況

受精前後における遺伝子発現リプログラミング機構の解明に向けて、まず活発に遺伝子を発現している成長中の卵と受精後の初期胚において、リアルタイムに発現している遺伝子のプロファイルを作成することを目指した。そこで、卵あるいは受精直後の胚に大量に蓄積された母性 mRNA から、新しく合成された mRNA (新生 mRNA) を単離する方法を確立し1細胞期胚での新規発現遺伝子の解析を行った。その結果、確実に1細胞期に転写されているといえる遺伝子が11個見つかった。これらは、受精後に最初に発現する遺伝子であり、受精後の遺伝子発現開始機構の解析において有用なマーカー遺伝子とすることができる。

実際に、上記の遺伝子の中の1つである

Tktl1 の転写開始点上流域をレポーター遺伝子に繋げたプラスミドを受精前後の卵に顕微授精を行うことで、その発現調節を調べたところ、上流域 500bp のみで受精前の卵では発現が見られず受精後に始めて発現するという調節が可能であることが分かった。

また、遺伝子発現を調節するエピジェネティックな因子を解析する手法として、DM-ChIP 法の確立を目指した。すなわち、成長期卵特異的に発現する ZP3 遺伝子の制御領域をコードする DNA 断片を成長期卵および成長卵にマイクロインジェクションし、これを抗アセチル化ヒストン抗体で免疫沈降により回収した。その結果、グローバルにアセチル化レベルの高い成長卵からより多くの DNA 断片が回収され、本実験法が有効に使用できることが示された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。上述したように、計画した研究は確実に結果が得られている。特にこれまでの研究で、今後の研究に必要な実験系が確立されたことより、今後大きな成果が得られることが期待される。

4. 今後の研究の推進方策

概ね当初に計画した通りに研究を進めて行きたい。ただし、エピジェネティックな因子として当初はヒストン修飾を主なターゲットとしていたが、近年の研究により遺伝子発現の調節にヒストン変異体の置換が重要な働きをすることが示されてきたため、これについても集中した解析を行っていく予定である。

5. 代表的な研究成果

(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 8 件)

- ① Inoue, A., Ogushi, S., Saitou M., Suzuki, M.G. and Aoki, F.: Involvement of Murine Nucleoplasmin 2 in the Decondensation of Sperm Chromatin after Fertilization. *Biol. Reprod.*, in press. (掲載確定) [査読有]
- ② Nashun, B., Yukawa, M., Liu, H., Akiyama, T. and Aoki, F.: Changes in the nuclear deposition of histone H2A variants during preimplantation development in mice. *Development*, 137, 3785-3794, 2010. [査読有]
- ③ Abe, K., Inoue, A., Suzuki, M.G. and Aoki F.: Global gene silencing is caused by the dissociation of RNA polymerase II from DNA in mouse oocytes. *J. Reprod. Dev.*, 56, 502-507, 2010. [査読有]
- ④ Inoue, A. and Aoki, F.: Role of the nucleoplasmin 2 C-terminal domain in the formation of nucleolus-like bodies in mouse oocytes. *FASEB J.*, 24, 485-494, 2010. [査読有]
- ⑤ Suzuki, T., Abe, K., Inoue, A. and Aoki, F.: Expression of c-MYC in nuclear speckles during mouse oocyte growth and preimplantation development. *J. Reprod. Dev.*, 55, 491-495, 2009. [査読有]
- ⑥ Inoue, A., Nakajima, R., Nagata, M. and Aoki, F.: Contribution of the oocyte nucleus and cytoplasm to the determination of meiotic and developmental competence in mice. *Hum. Reprod.*, 23, 1377-1384, 2008. [査読有]
- ⑦ Sonehara, H., Nagata, M., and Aoki, F.: Roles of the first and second round of DNA replication in the regulation of zygotic gene activation in mice. *J. Reprod. Dev.*, [査読有] 54, 381-384, 2008.
- ⑧ Ooga, M., Inoue, A., Kageyama, S., Akiyama, T., Nagata, M. and Aoki, F.: Changes in H3K79 methylation during preimplantation development in mice. *Biol. Reprod.*, 78, 413-424, 2008. [査読有]

[学会発表] (計 6 件)

- ① Aoki, F.: Involvement of histone variants replacement in the genome remodeling after fertilization.

International Symposium on "Epigenome Network Development and Reprogramming of Germ Cells, Fukuoka, November 22-24, 2010.

- ② Nashun B & Aoki F.: The preferential incorporation of H2A.X into chromatin in early preimplantation embryos involves its C-terminal domain. 69th Annual Meeting of Society for Developmental Biology. Albuquerque, August 5-9, 2010.
- ③ Abe K & Aoki F.: Mechanism of global gene silencing and reactivation during oocyte growth at the one-cell stage after fertilization in mice. 69th Annual Meeting of Society for Developmental Biology. Albuquerque, August 5-9, 2010.
- ④ Nashun B, Yukawa M, Liu H, Akiyama T & Aoki F.: Histone H2A variant dynamics during preimplantation development in mice. Cold Spring Harbor Symposium -Epigenetics, Chromatin & Transcription. Suzhou, May 17-21, 2010.
- ⑤ 青木不学: 受精前後におけるゲノム再プログラム化機構—ヒストン修飾および変異体置換の関与—. 第 56 回日本実験動物学会、大宮、2009 年 5 月 14 日.
- ⑥ 青木不学: マウス初期胚における遺伝子発現調節機構. 第 50 回日本哺乳動物卵子学会、東京、2009 年 5 月 8 日.
- ⑦ Akiyama T, Nagata M, Aoki F.: Dynamics of histone H3 variant deposition during oogenesis and preimplantation development. World Congress on Reproductive Biology. Kailua-Kona, May 24-25, 2008
- ⑧ Yukawa M, Nagata M, Aoki F.: Involvement of ATM in H2AX phosphorylation during early preimplantation development in mice. 41th Annual meeting of Society for the Study of Reproduction. Kailua-Kona, May 27-30, 2008.
- ⑨ Inoue A, Nakajima R, Nagata M, Aoki F.: The contribution of germinal vesicle materials to the determination of developmental competence in mouse oocytes. 41th Annual meeting of Society for the Study of Reproduction. Kailua-Kona, May 27-30, 2008.

[図書] (計 1 件)

- ① 卵子学 (共著・分担) 京都大学出版会、2011 年 (印刷中) (掲載確定)