

平成 22 年 6 月 9 日現在

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2008～2009

課題番号：20770002

研究課題名（和文） レトロトランスポゾン獲得による哺乳類の胎生進化の解明

研究課題名（英文） An evolution of mammalian viviparity by retrotransposon

研究代表者

小野 竜一 (ONO RYUICHI)

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：10401358

研究成果の概要（和文）：申請者は、これまでに新規父性発現インプリンティング遺伝子 *Peg10* を単離した。また、*Peg10* がレトロトランスポゾン由来の遺伝子であること、*Peg10* が胎盤形成に必須な機能を持っていることを明らかにしている。今回、*Peg10* の機能を明らかにするために、*Peg10* KO マウスより胎盤の幹細胞である TS 細胞を樹立し、*Peg10* の欠損により発現の減少する遺伝子群の単離に成功した。これらの遺伝子群は、哺乳類の胎生進化を考える上で重要と考えられる。

研究成果の概要（英文）：I have previously identified *Peg10* as a novel imprinted gene. Moreover, I have confirmed that *Peg10* is a retrotransposon-derived gene and have an essential function for placental development. In this grant, to reveal the mechanism of *Peg10* function in placenta, I have established *Peg10* KO TS (Trophoblast Stem) cell lines from *Peg10* KO mice. By comparing the gene expression between *Peg10* KO TS cell lines and wild type TS cell lines, I could succeed in the isolation of *Peg10* down regulated genes. These genes must be important for the evolution of mammalian viviparity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・ゲノム動態

キーワード：レトロトランスポゾン、胎盤

1. 研究開始当初の背景

申請者は、新規父性発現インプリンティング遺伝子 *Peg10* (*Paternally Expressed Gene 10*) を単離し、*Peg10* が哺乳類で高度に保存されているレトロトランスポゾン由来の遺伝子

であることを明らかにした。また、*Peg10* の機能を明らかにするために、*Peg10* KO マウスを作製し、*Peg10* が胎盤の形成に必須な機能を持っていることを明らかにした。

2. 研究の目的

Peg10 KO マウスを用いて、レトロトランスポゾンであった *Peg10* が、どのように胎盤形成に関与しているかを明らかにすることによって、哺乳類の胎生進化を解明することを目的としている。

3. 研究の方法

Peg10 には DNA 結合ドメインがあり転写因子として機能していると考えられることから、DNA マイクロアレイを利用して *Peg10* KO マウス胎盤、*Peg10* KO TS (Trophoblast Stem) 細胞において発現を比較する。

Peg10 KO マウス胎盤は、*Peg10* KO マウスおよび野生型マウスにおいて発現に差の見られない受精後 8.5 日目胚を用いる。また、TS 細胞については、*Peg10* KO マウス、および野生型マウスより樹立を試みる。

4. 研究成果

(1) *Peg10* の胎盤での機能を解析するために *Peg10* KO の TS (trophoblast stem) 細胞の樹立を試みた。*Peg10* ヘテロ KO マウス同士の交配し、受精後 3.5 日目受精卵を採取し、その受精卵より、TS 細胞を樹立した。樹立した TS 細胞は、*Peg10* ホモ KO が 3 ライン、ヘテロ KO が 6 ライン、野生型が 3 ラインであった。

(2) *Peg10* KO TS 細胞の遺伝子マーカー解析を行った。TS 細胞は、未分化状態で発現するマーカー遺伝子、および分化させた時に発現する遺伝子マーカーが報告されており、これらのマーカー遺伝子の発現を解析した。その結果、*Peg10* KO TS 細胞において、Eomes などの未分化マーカーは未分化状態で正常に発現し、分化状態で発現が減少するという野生型と同じ発現パターンを示し、Gcm1 などの分化マーカーは、未分化状態では発現せずに、分化状態で発現が誘導されてくることから、*Peg10* KO TS 細胞は、TS 細胞としての基本的な特性は保持していることを明らかにした。

(3) 得られた *Peg10* KO TS 細胞、および野生型 TS 細胞を幹細胞の状態、および分化させた状態で、遺伝子発現を比較する為に、DNA マイクロアレイ解析を行った。この結果、複数の遺伝子発現の変化する遺伝子群候補を単離できた。また、これらの候補遺伝子を定量的 PCR 法により、実際に遺伝子発現が減少していることを確認している。

(4) *Peg10* KO マウス胎盤、および野生型マウス胎盤の遺伝子発現を DNA マイクロアレイを

用いて解析を行った。その結果、複数の遺伝子発現に変化をする遺伝子群を単離した。これらは、胎盤形成に重要な役割を持っている可能性がある。

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 1 件)

(著者名) 小野竜一、成瀬美衣、金児-石野知子、石野史敏

(論文標題) *Peg10* KO マウス

(雑誌名) 分子細胞治療

(査読の有無) 無

(巻) 7

(発行年) 2008

(最初と最後の頁) 370-373

[学会発表] (計 15 件)

(発表者名) Ono R, et. al.

(発表標題) Retrotransposons and the evolution of mammalian viviparity

(学会名等) 第二回エピジェネティクス研究会年会

(発表年月日) 2008 年 5 月 9-10 日

(発表場所) 三島

(発表者名) Ono R, et. al.

(発表標題) Phenotypic Analysis of *Peg10* KO Mice Placenta

(学会名等) IFPA 2008

(発表年月日) 2008 年 9 月 10-13 日

(発表場所) Seggau, Austria

(発表者名) Sekita Y, Kagami M, Endo D, Ono R, Kohda T, Ogata T, Kaneko-Ishino T and Ishino F.

(発表標題) Roles of *Peg11/Rtl1* in neor and postnatal growth.

(学会名等) EMBO Workshop on Genomic Imprinting

(発表年月日) 2008 年 9 月 21-24 日

(発表場所) TEMASEK LifeScience Laboratory, Singapore

(発表者名) Ishino F, Ono R, Suzuki S, Sekita Y, Naruse M, Koda T and Kaneko-Ishino T.

(発表標題) Evolution of placentation in eutherian mammals contributed by exaptation of *PEG10* and *PEG11/RTL1* from

retrotransposons.

(学会名等) 8th NIBB-EMBL Joint Meeting
“Evolution: Genomes, Cell Types and Shapes”

(発表年月日) 2008年11月21-23日

(発表場所) Okazaki Conference Center,
Okazaki

(発表者名) 小野竜一、成瀬美衣、中村健司、
日野敏昭、鈴木一右島理可、高部美穂、宇
佐美貴子、幸田尚、小倉淳郎、横山峯介、金
児-石野知子、石野史敏

(発表標題) レトロトランスポゾン由来の遺
伝子 *Peg10* の胎盤での機能

(学会名等) 第31回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2008年12月9-12日

(発表場所) 神戸ポートアイランド

(発表者名) 石野史敏、小野竜一、関田洋一、
鈴木俊介、成瀬美衣、入江将仁、幸田尚、横
山峯介、中村健司、金児-石野知子

(発表標題) 哺乳類特異的なレトロトランス
ポゾンによる哺乳類の胎生進化

(学会名等) 第31回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2008年12月9-12日

(発表場所) 神戸ポートアイランド

(発表者名) 金児-石野知子、関田洋一、遠
藤大輔、鏡雅代、小野竜一、幸田尚、緒方勤、
石野史敏

(発表標題) 個体発生に重要な役割を果たす
アンチセンス RNA: RNAi 機構を介したアン
チセンス RNA による *Peg11/Rtl1* 遺伝子の
発現制御

(学会名等) 第31回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2008年12月9-12日

(発表場所) 神戸ポートアイランド

(発表者名) 成瀬美衣、小野竜一、関田洋一、
石井雅之、中村健司、日野敏昭、鈴木一 右
島理可、幸田尚、横山峯介、金児-石野知子、
石野史敏

(発表標題) レトロトランスポゾン由来の遺
伝子 *Sirh*-family の解析

(学会名等) 第31回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2008年12月9-12日

(発表場所) 神戸ポートアイランド

(発表者名) Ishino F, Ono R, Suzuki S,
Sekita Y, Naruse M, Koda T and Kaneko
-Ishino T.

(発表標題) Contribution of

Retrotransposons to the Evolution of
Genomic Imprinting and Placentation in
Mammals

(学会名等) International Symposium on
Decoding Epigenetic Code

(発表年月日) 2008年12月15-16日

(発表場所) Tokyo University, Tokyo

(発表者名) 小野竜一、成瀬美衣、中村健司、
日野敏昭、遠藤大輔、入江将人、岩船浩孝、石
井雅之、宇佐美貴子、幸田尚、小倉淳郎、横
山峯介、金児-石野知子、石野史敏

(発表標題) The function of
retrotransposon-derived gene, *Peg10*

(学会名等) 第32回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2009年12月9-12日

(発表場所) パシフィコ横浜

(発表者名) 成瀬美衣、小野竜一、関田洋一、
遠藤大輔、入江将人、岩船浩孝、石井雅之、
中村健司、日野敏昭、宇佐美貴子、幸田尚、
横山峯介、金児-石野知子、石野史敏

(発表標題) Retrotransposon-derived *Sirh*
family Genes and Mammalian viviparity

(学会名等) 第32回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2009年12月9-12日

(発表場所) パシフィコ横浜

(発表者名) 遠藤大輔、関田洋一、金児-石
野知子、鏡雅代、小野竜一、幸田尚、緒方勤、
石野史敏

(発表標題) Anti*Peg11/Rtl1*, essential
antisense RNA of retrotransposon derived
genes plays two different role in mouse
development

(学会名等) 第32回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2009年12月9-12日

(発表場所) パシフィコ横浜

(発表者名) 石井雅之、小野竜一、成瀬美衣、
遠藤大輔、入江将人、岩船浩孝、幸田尚、金
児-石野知子、石野史敏

(発表標題) Analysis of
retrotransposon-derived genes, *Sirh4*,
Sirh5, and *Sirh6*

(学会名等) 第32回日本分子生物学会年会

(発表年月日) 2009年12月9-12日

(発表場所) パシフィコ横浜

(発表者名) 石野史敏、小野竜一、関田洋一、
鈴木俊介、成瀬美衣、幸田尚、小倉淳郎、中
村健司、横山峯介、Marilyn Renfree、金児-

石野知子
(発表標題) Mammalian-specific genes derived from retrotransposons functioning placenta formation
(学会名等) 第32回日本分子生物学会年会
(発表年月日) 2009年12月9-12日
(発表場所) パシフィコ横浜

(発表者名) 小野竜一、成瀬美衣、中村健司、日野敏昭、宇佐美貴子、幸田尚、小倉淳郎、横山峯介、金児-石野知子、石野史敏
(発表標題) 殖細胞でエピジェネティックリプログラミングされる胎盤形成に必須な遺伝子群の解析

(学会名等) 「生殖系列の世代サイクルとエピゲノムネットワーク」
第2回 公開シンポジウム

(発表年月日) 2009年11月26-27日
(発表場所) 品川・コクヨホール

[図書] (計 0件)
[産業財産権]
○出願状況 (計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野 竜一 (ONO RYUICHI)
東京医科歯科大学・難治疾患研究所・助教

研究者番号：10401358

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし