

## 自己評価報告書

平成 23 年 4 月 25 日現在

機関番号：82401

研究種目：特定領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20062013

研究課題名（和文）マウス多能性胚細胞・生殖細胞の発生プログラム制御に関する研究

研究課題名（英文）Studies on developmental programs of embryonic stem cells and germ cells in mice.

研究代表者

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

研究分野：生殖系列

科研費の分科・細目：

キーワード：(1)始原生殖細胞(2)多能性幹細胞(3)エピジェネティクス(4)DNA メチル化(5)遺伝子発現(6)細胞分化

## 1. 研究計画の概要

哺乳類生殖系列細胞は、初期胚に存在する多能性細胞から派生し、ゲノムの再プログラム化というエピジェネティックなゲノム再編や減数分裂を経た後に、配偶子となり次世代へと遺伝情報を伝えていく。本研究では、この細胞系譜に属する内部細胞塊、エピプラストなどの胚性未分化細胞、始原生殖細胞 (PGC) の発生過程における全遺伝子の発現プロファイル動態の解析や、細胞核構造の変化やX染色体活性を指標としたゲノム再プログラム化過程の解析を行う。また、発生プログラムの転換点の詳細な解析を通じて、そのエピジェネティック制御機構の解明を試みる。変異体等を利用し、発生過程で特徴的に変動する遺伝子群の機能解析を行ない、さらに得られた知見を統合して *in vitro* での発生イベントの再現を行っていくことを目的とする。

## 2. 研究の進捗状況

内部細胞塊、エピプラストなどの胚性未分化細胞、始原生殖細胞 (PGC) の発生過程では、遺伝子発現やエピジェネティックステータスの大規模な変動が生じる。本研究では、この発生プログラムの転換点の詳細な解析を通じて、その制御機構の解明を試みている。遺伝子発現プロファイルの解析を行ったところ、生殖隆起に到達した後の始原生殖細胞は、それ以前と大きく異なる遺伝子発現プロファイルを示し、また雌雄の細胞間でも数千単位の遺伝子において差次的発現が認められた。またその分化過程において特に著しい発現変動を示す、「発生の

変曲点」とも呼ぶべきステージを特定した。その制御には様々なエピジェネティック制御が関与すると考えられるが、その一つであるDNAメチル化の解析を行った。胚性細胞、PGCは得られる細胞数が少ないため、既存の技術の微量化を試み、既存の手法の約1/500の材料の解析が可能となるように技術の改善を行い、実際に各種の胚由来幹細胞、PGC等の比較を行った。その結果、各細胞タイプが特徴的なメチル化パターンを持つことが示され、それを元に差次的にメチル化を受けているDNA領域の特定に成功した。PGCゲノムのメチル化プロファイルの取得にも成功し、PGCゲノムが他と大きく異なるエピジェネティック状態にあることを見出した。また、この解析の過程で分節的重複を示す比較的広いゲノム領域が、連続して生殖細胞特異的に低メチル化状態にあり、この領域には生殖細胞に特異的な発現を示す遺伝子が集中していることが明らかとなった。このことは、生殖細胞ゲノムは体細胞と大きくことなるDNAメチル化状態を持ち、それにより広範囲のゲノム領域単位の発現制御を行っていることが示唆された。また、ES細胞の分化誘導により得られたPGC様の細胞を解析したところ、胚から単離したPGCとは大きく異なるDNAメチル化プロファイルを示すことが明らかとなった。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。  
始原生殖細胞発生過程の大部分の遺伝子発現プロファイル取得については完了した。これに加えて、DNA メチル化プロファイルの解析技術の微量化を行い、始原生殖細胞の発

生過程の一部について、メチル化プロファイルの世界に先駆けて取得し、また各種幹細胞についても解析を行った。

#### 4. 今後の研究の推進方策

同一のプラットフォームを使って初期胚からPGCの全発生過程を通じた遺伝子発現プロファイリングを完成させる。同時に、同一サンプルを用いてDNAメチル化の変動を解析する。それらの結果を総合し、DNAメチル化と遺伝子発現の関連性を追究する。DNAメチル化解析に関しては、現在開発中の超並列シーケンサーを用いた新規技術を適用する。

#### 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 10 件)

1. Kasahara, T., Abe, K., Mekada, K., Yoshiki, A., Kato, T. (2010) Genetic variation of melatonin productivity in laboratory mice under domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 107, 6412-6417. (査読あり)

2. Kobayashi, S., Fujihara, Y. Mise, N., Kaseda, K., Abe, K., Ishino, F., Okabe, M. (2010). The X-linked imprinted gene family *Fthl17* shows predominantly female expression following the two-cell stage in mouse embryos. *Nucleic Acids Res.* 38, 3672-3681. (査読あり)

3. 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. and Ogura, A. (2010) Impeding *Xist* expression from the active X chromosome improves mouse somatic cell cloning. *Science* 330, 496-499. (査読あり)

4. Wu, G., Gentile, L., Fuchikami, T., Sutter, J., Psathaki, K., Esteves, T., Arauzo-Bravo, M.J., Ortmeier, C., Verberk, G., Abe, K., Schöler, H.R. (2010) Initiation of trophoctoderm lineage specification in mouse embryos is independent of *Cdx2*.

*Development* 37, 4159-4169. (査読あり)

5. Imamura, M., Aoi, T., Tokumasu, A., Mise, N., Abe, K., Yamanaka, S., and Noce, T. (2010) Induction of primordial germ cells from mouse induced pluripotent stem cells derived from adult hepatocytes. *Molecular Reproduction and Development* 77, 802-811.

(査読あり)

6. Numata, K., Kohama, C., Abe, K., Kiyosawa, H. (2010) Highly parallel SNP genotyping reveals high-resolution landscape of mono-allelic *Ube3a* expression associated with locus-wide antisense transcription. *Nucleic Acids Res.* 39, 2649-57. (査読あり)

7. Hoki, Y., Ikeda, R., Mise, N., Sakata, Y., Ohhata, T., Sasaki, H., Abe, K., Sado, T. Incomplete X-inactivation initiated by a hypomorphic *Xist* allele in the mouse. *Development* in press. (査読あり)

[学会発表] (計 14 件)

[図書] (計 2 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 0 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] なし