

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

| | | | | | |
|---|---------|--|---------|---------|---------------|
| 研究テーマ (和文) AB | | 核移植技術を利用した体細胞と生殖細胞の核初期化プロセスの解析 | | | |
| 研究テーマ (欧文) AZ | | Process of genomic reprogramming in somatic and germ-cell nuclear transferred embryos. | | | |
| 研究氏 代 表 名 者 | カナ CC | 姓)イノウエ | 名)キミコ | 研究期間 B | 2007 ~ 2008 年 |
| | 漢字 CB | 井上 | 貴美子 | 報告年度 YR | 2009 年 |
| | ローマ字 CZ | INOUE | KIMIKO | 研究機関名 | 独立行政法人理化学研究所 |
| 研究代表者 CD 所属機関・職名 | | 独立行政法人・理化学研究所 専任研究員 | | | |
| <p>概要 EA (600 字～800 字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究においては、核移植技術の産業への実用化に向けた核移植個体出生率の向上を最終目的として、マウス体細胞核移植初期胚における遺伝子発現解析を試みた。体細胞核移植胚は体外受精胚と比較すると個体間の差が大きいことが予想されるため、個別の胚を用いて解析を行う必要があるが、単一胚に含まれる RNA 量が微量であることが遺伝子発現解析における技術的制限要因になっている。本研究においては個々の胚を用いて網羅的な発現解析を行うために、単一核移植胚盤胞期胚の RNA を T7RNA 増幅法により2回増幅した cRNA に Cy3 ラベル化を行った後、Agilent 社マイクロアレイによる発現解析を行った。体外受精胚、核移植胚はクラスタリング解析、主成分分析により明確に分離され、本実験系が高い再現性を持って機能していることが明らかとなった。単一のマウス初期胚を用いたマイクロアレイによる遺伝子発現解析はこれまでに報告例が無く、本研究が初めての成功例であると言える。</p> <p>次に核移植胚における遺伝子発現の特徴についてより詳細な解析を行ったところ、体外受精胚と比較して発現抑制されている遺伝子の内、その多くが X 染色体上に位置していることが明らかとなった。加えて、X 染色体上には発現抑制が特に強く表れている領域が存在していた。さらに生体内で自然発生的なゲノム初期化作用を受ける細胞である始原生殖細胞を核ドナーとして作製した核移植胚と体細胞核移植胚との比較を行ったところ、同様に X 染色体に発現抑制遺伝子が集中していることが明らかとなったものの、体細胞核移植胚に見られた特定の領域の一部では発現が改善していることが明らかとなった。今後は両者の差をさらに詳細に解析し、生殖細胞で見られるゲノム初期化を体細胞核移植胚に反映させることで、体細胞核移植胚の出生率向上へと繋げることが出来ると予想している。</p> | | | | | |
| キーワード FA | | 体細胞核移植 | 遺伝子発現解析 | ゲノム初期化 | |

(以下は記入しないでください。)

| | | | | | | | | | | | | | |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA | | | | | 研究課題番号 AA | | | | | | | | |
| 研究機関番号 AC | | | | | シート番号 | | | | | | | | |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） | | | | | | | | | |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|---------------|---|---|---|--------------------|-----------------|
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | Sex-Reversed Somatic Cell Cloning in the Mouse. | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | Inoue K. et al. | 雑誌名 ^{GC} | J Reprod Dev. | | | | | |
| | ページ ^{GF} | ～ | 発行年 ^{GE} | 2 | 0 | 0 | 9 | 巻号 ^{GD} | <i>In press</i> |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | | 雑誌名 ^{GC} | | | | | | |
| | ページ ^{GF} | | 発行年 ^{GE} | | | | | 巻号 ^{GD} | |
| 雑誌 | 論文標題 ^{GB} | | | | | | | | |
| | 著者名 ^{GA} | | 雑誌名 ^{GC} | | | | | | |
| | ページ ^{GF} | ～ | 発行年 ^{GE} | | | | | 巻号 ^{GD} | |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | |
| 図書 | 著者名 ^{HA} | | | | | | | | |
| | 書名 ^{HC} | | | | | | | | |
| | 出版者 ^{HB} | | 発行年 ^{HD} | | | | | 総ページ ^{HE} | |

欧文概要^{EZ}

The aim of this study is to develop the system of global gene expression analysis of somatic cell nuclear transferred (SCNT) embryos for the purpose of their application into agricultural and medical industries. As the first step, we attempted to develop microarray analysis using single SCNT and *in vitro* fertilized (IVF) embryo. Total RNA was isolated from single embryo and amplified with T7 RNA polymerase. Amplified RNA was labeled with Cy3 and hybridized into Whole Mouse Genome Oligo DNA Microarray (Agilent). Gene expression pattern of SCNT and IVF blastocysts were discriminated by clustering and principle component analysis, indicating that these RNA amplification and microarray system could be performed reproducibly.

In the next experiment, we compared gene expression pattern of somatic and primordial germ cell nuclear transferred (PGCNT) blastocysts with IVF embryos, because primordial germ cell genomes are dynamically reprogrammed during fetal development. Interestingly, most of downregulated genes in SCNT embryos were located on X chromosome. Although we found that PGCNT embryos showed similar gene expression pattern to SCNT embryos, expression level of some genes on specific X chromosome regions was restored to that of IVF blastocysts. Further research on differences between SCNT and PGCNT embryos would clarify the cause of low efficiencies in mammalian cloning.