

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		X染色体不活化における機能性 small RNA Far2, Far3 の解析			
研究テーマ (欧文) AZ		Analysis of small RNAs, Far2, and Far3, in the X chromosome inactivation mechanism			
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓)コバヤシ	名)シン	研究期間 B	2010 ~ 2012 年
	漢字 CB	小林	慎	報告年度 YR	20 12 年
	ローマ字 CZ	Kobayashi	Shin	研究機関名	東京医科歯科大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		難治疾患研究所、エピジェネティクス分野、非常勤講師(JST、さきがけ研究員兼務)			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>哺乳類の雌では、2本あるX染色体のうち1本の遺伝子発現が抑制され、X染色体上の遺伝子の発現量が雄と同じになることが不可欠である。これはX染色体の不活化と呼ばれ、発生のごく初期である着床前の時期では、インプリントを受け父親由来のX染色体が選択的に不活化される。この時、X染色体上の非コードRNAである<i>Xist</i>は、雌特異的に発現し、X染色体の不活性化の開始に必須であると考えられている。しかし、<i>Xist</i>単独ではX染色体不活性化機構の全てを説明することは不可能であり、その全体像は不明な点が多い。そこで、X染色体の不活性化機構への理解を深めるために、<i>Xist</i>以外の因子の特定を試みた。本研究では、近年遺伝子発現調節に関与していることが明らかになってきたmicro RNAやsiRNAなどのsmall RNAに着目し、着床前で不活性化の起こる雌胚のみで発現する因子を探索した。</p> <p>着床前の不活化機構について新たな因子を特定するためには、発生のごく初期の雌胚と雄胚との間でsmall RNA発現を比較する必要がある。そこでX染色体上にGFP遺伝子が挿入されたマウスを用いた。<i>X^{GFP}</i>の雄と、野生型の雌(XX)を交配させて得られる初期胚のうち雌(<i>XX^{GFP}</i>)は緑色蛍光を発するが、雄(XY)は発しない。これにより、通常は区別できない着床前の胚(胚盤胞)で雌雄が判定できる。この方法により回収した雌雄の胚盤胞からそれぞれsmall RNAを回収し、次世代シーケンサーを用いて雌雄間でsmall RNAの発現を比較した。その結果、雌の胚盤胞のみで特異的に発現する2つのsmall RNA、<i>Far2</i> (Female abundant small RNA 2)、<i>Far3</i>を発見することに成功した。さらに、DNA多型を用い父親由来、母親由来のX染色体を区別する工夫を凝らし、<i>Far2</i>、<i>Far3</i>が発現するアレルを調べた結果、これらのsmall RNAはインプリントを受け、不活化される父親由来のX染色体自身から発現することを明らかにした。これらsmall RNAはインプリントを受け、雌特異的に着床前胚で発現することから、X染色体不活性化成立機構へ関与が考えられる。この成果より、これまでの<i>Xist</i>を中心とした研究とは異なる切り口で不活化機構の解明に迫ることが出来る。</p>					
キーワード FA	雌雄差	初期胚	非コードRNA		

(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}	現在、論文投稿準備中です。掲載が決定しましたらお知らせします。							
	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}	
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

In female mammals, silencing of one of two X chromosomes is necessary to maintain the number of gene products encoded in X chromosome as equal as males. The noncoding RNA *Xist*, predominantly expressed in females, has been considered to be sufficient for the initiation of X chromosome inactivation. However, the entire process of X chromosome inactivation is largely unknown. To understand the molecular basis of X chromosome inactivation, we attempted to identify additional genetic factors involved in the X chromosome inactivation.

Focusing on small RNAs such as microRNA and siRNA, we investigated factors that are specifically expressed in female blastocysts. In order to separate male and female blastocysts, we used a non-invasive sexing method by tagging X chromosome with EGFP transgene. With this method, the female (XX^{GFP}) blastocysts can be easily and accurately separated from the non-fluorescent male (XY) blastocysts by mating X^{GFPY} to wild type female (XX). Small RNAs were isolated individually from male and female blastocysts and compared using a high-throughput sequencing system. As a result, we identified two small RNAs predominantly expressed in the female blastocysts and named as *Far2* (Female abundant small RNA 2) and *Far3*, respectively. Predominant expression of these small RNAs in female at the preimplantation stage suggests their involvement in the X chromosome inactivation.