

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		クローン初期胚分子動態および分子修飾状態変化の生胚解析に基づく個体発生条件の検索			
研究テーマ (欧文) AZ		Searching for prerequisites for full term development of cloned embryos based on the analysis of movement of molecules during early embryogenesis.			
研究氏 代表名 者	カタカナ CC	姓)ミズタニ	名)エイジ	研究期間 B	2012～ 2014 年
	漢字 CB	水谷	英二	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	MIZUTANI	EIJI	研究機関名	山梨大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		山梨大学生命環境学部生命工学科・助教			
概要 EA (600字～800字程度にまとめて下さい。)					
<p>体細胞クローン胚の多くは外観上正常な胚盤胞まで発生できるが、産仔に至るものは非常に少ない。初期胚発生過程の細胞遺伝的・分子的解析と個体発生能の解析を同じ胚で行うことが出来れば、クローン胚発生停止のより直接的な原因が解明出来る。申請者らは以前クローン胚の大部分が染色体分配異常(ACS)を起こしており、結果として発生停止に至っていることを見出した(Mizutani et al. Dev. Biol., 2012)。このACSが起きる原因を探るため、注入直後のクローン胚のライブセルイメージング解析を行ったところ、ドナー核注入から時間が経過すると、微小前核を形成することがわかった。さらに微小前核を形成したクローン胚の80%近くがその後の分割でACSを起こしていることが明らかとなり、微小前核形成がクローン胚の染色体異常の一因となっていることが示唆された。</p> <p>また、ACSが個体発生阻害の大きな要因であることを他のサンプルでも確認するため、個体発生率が10%程度と低い凍結乾燥精子の顕微授精胚について染色体動態をイメージング解析したところ、用いた凍結乾燥精子サンプルはいずれも顕微授精後の胚発生において90%近くがACSを起こしていることが明らかとなった。</p> <p>クローン産仔作成効率の高いドナー細胞を用いることは、個体発生能と初期胚解析を同一胚で行うクローン胚のイメージング解析実験には重要である。このような細胞を検索したところ脳組織中の海馬CA1領域に抑制的ヒストン修飾が低い細胞が存在することを見出した。この細胞を用いてクローンマウス作製を試みたところ、10%と高い効率でクローン作製が可能なが明らかとなり、世界で初めて成体マウス脳神経細胞からクローンマウスを作製することに成功した。クローン胚のマイクロレイ解析の結果、CA1領域の細胞ではこれまで用いられていた卵丘細胞やセルトリ細胞に由来するクローン胚よりも遺伝子発現が改善されていることも確認した(現在投稿中)。今後はこれらの細胞を用いてクローン胚を作製しイメージング解析を進めていく予定である。</p>					
キーワード FA	クローン胚	イメージング	凍結乾燥精子	神経細胞	

(以下は記入しないで下さい。)

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下さい。）									
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}	
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}

Most of somatic cell nuclear transfer (SCNT) embryos could develop to blastocysts with normal morphology, but few of them could develop to term. To assess this low success rate of animal cloning, it is necessary to observe the live embryos during their early embryogenesis. Previously, we found that abnormal chromosome segregation (ACS) during early embryogenesis is one of the critical reasons of the developmental arrest of clone embryos and their low success rate by live-cell imaging analysis (Mizutani et al. Dev. Biol., 2012). To assess the cause of ACS, we analyzed cloned embryos immediately after donor cell injection. The donor chromosomes moved dynamically and dispersed throughout the cytoplasm over time. And very small PNs (micro PN) were found near regular sized PNs in some embryos and our imaging system revealed that these micro PNs were derived from small chromosome fragments. Their incidence increased significantly in the group activated after 180 min, and 78% of them showed ACS at first mitosis. Such ACS during early embryogenesis was also observed in freeze-dried sperm derived embryos, the model for the embryo with low full term developmental ability. As the results of live-cell imaging analysis, we found that very high frequency of ACS at first mitosis. Thus the chromosome segregation during early embryogenesis is one of the critical factors for full term development of mammalian embryos.

It is important for searching donor cell with high cloning efficiency for live cell imaging study of cloned embryos. We found that hippocampal CA1 pyramidal cells in the brain tissue had low repressive histone modification marks. After nuclear transfer, the SCNT embryos from these cells could develop to term with high rate (10%) and the micro array analysis revealed that the numbers of aberrantly expressed genes were reduced when compared with those of Sertoli cell- or cumulus cell-derived cloned blastocysts. In future, we try to clarify the necessary and sufficient condition for producing clone animal and identify the full term developmental potent embryos in pre-implantation stage using these cells by live-cell imaging analysis.