

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		細胞分裂に依存しない新規リプログラミング系の構築			
研究テーマ (欧文) AZ		Establishment of a novel reprogramming system that does not require cell division			
研究氏 代表 者	カナ CC	姓)ミヤモト	名)ケイ	研究期間 B	2015 ~ 2016 年
	漢字 CB	宮本	圭	報告年度 YR	2016年
	ローマ字 CZ	MIYAMOTO	Kei	研究機関名	近畿大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		近畿大学生物理工学部・講師			
<p>概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)</p> <p>本研究では、細胞分裂及びDNA複製を停止した状態で体細胞核に転写の初期化(転写リプログラミング)を誘導する新規核移植系を開発し、それを利用してリプログラミング誘導に関わる分子機構を解明することを目標とする。従来の核移植法は、第二減数分裂中期の卵子(MII 卵)を使用し、体細胞核を卵子に移植後、転写リプログラミングが開始するまで必然的に細胞分裂・DNA複製を伴う。すなわち、転写リプログラミングを評価するためには、細胞分裂やDNA複製の影響を常に考慮する必要があった。以上の理由により、哺乳類において、転写リプログラミングを分裂・複製非依存的に直接誘導できる卵内・初期胚内因子は未だほとんど同定されていない。</p> <p>研究期間中、細胞分裂・DNA複製非依存的に転写リプログラミングを誘導できる核移植系の開発を当初の計画通り行った。まず、細胞周期阻害剤を利用して、転写活性の高いG2期の状態にマウス4細胞期胚を停止させる方法を検討した。多くの胚がG2/M期に停止する処理条件を発見し、停止したマウス4細胞期胚を核移植のレシピエントとして利用した。ドナー細胞にはOct4-GFPリポーターを有するマウス胎児繊維芽細胞を使用し、転写リプログラミングはGFPの蛍光によって確認した。核移植後24時間以内に、GFPのシグナルが確認でき、細胞分裂・DNA複製が行われていない状態でも転写リプログラミングが誘導可能であることを示した。また、転写のリプログラミングの際に誘導される特徴的なクロマチンリモデリングも明らかにした。従来のMII期卵への核移植との比較解析や、カエル卵母細胞核を用いた核移植とのリプログラミング現象の比較検討により、リプログラミングに重要なクロマチン状態も明らかにした。本研究の成果は、細胞分裂・DNA複製非依存的に、直接的にリプログラミング因子をスクリーニングできる基盤システムの構築につながる。</p>					
キーワード FA	核移植	リプログラミング	転写	クロマチン	

(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 <sup>GB</sup>	Reprogramming towards totipotency is greatly facilitated by synergistic effects of small molecules							
	著者名 <sup>GA</sup>	Kei Miyamoto, 他 15名	雑誌名 <sup>GC</sup>	Biology Open					
	ページ <sup>GF</sup>	In press	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	In press
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>	Gene resistance to transcriptional reprogramming following nuclear transfer is directly mediated by multiple chromatin-repressive pathways							
	著者名 <sup>GA</sup>	他 4 名, Kei Miyamoto, 他 9 名	雑誌名 <sup>GC</sup>	Molecular Cell					
	ページ <sup>GF</sup>	873~884	発行年 <sup>GE</sup>	2	0	1	7	巻号 <sup>GD</sup>	65
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	~	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要<sup>EZ</sup>

In this research, we develop a novel nuclear transfer system that can induce transcriptional reprogramming without the need for cell divisions and DNA replication, and moreover we take advantage of our developed nuclear transfer system in order to identify molecular mechanisms that are involved in transcriptional reprogramming. A conventional nuclear transfer system utilizes oocytes at the metaphase II (MII) stage, which is inevitably accompanied by cell divisions and DNA replication before detecting transcriptional reprogramming. Because of the cell divisions and DNA replication, it is not straightforward to analyze transcriptional reprogramming and hence only a few maternal/embryonic factors involved in reprogramming have been identified.

We first found a condition in which mouse 4-cell stage embryos were arrested at the G2/M phase while maintaining transcriptional activities. Then, the arrested embryos were used as recipients for nuclear transplantation of differentiated cells. When mouse embryonic fibroblasts carrying the Oct4-GFP reporter were transplanted, the activation of Oct4-GFP was observed within 24 hours, suggesting that transcriptional reprogramming can be induced without cell divisions and DNA replication. Furthermore, we revealed that transcriptional reprogramming is accompanied by global chromatin remodeling. We also found chromatin states important for successful reprogramming by comparing to results obtained from the conventional nuclear transfer system using mouse MII oocytes and from the *Xenopus* nuclear transfer system. Our achievements from this project contribute to the development of a nuclear transfer system enabling the screening of reprogramming factors in a cell division- and DNA replication-independent manner.