

## 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		3D-FISH 法を用いた巨細胞特異的遺伝子発現を可能にする核内配置の特性解明			
研究テーマ (欧文) AZ		3D-FISH analysis of nuclear architecture in trophoblast giant cells			
研究氏 代表 者	カタカナ CC	オガワ	ヒデヒコ	研究期間 B	2017～ 2018年
	漢字 CB	小川	英彦	報告年度 YR	2018年
	ローマ字 CZ	Ogawa	Hidehiko	研究機関名	東京農業大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		東京農業大学生命科学部バイオサイエンス学科・教授			
<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、マウス栄養膜幹細胞が栄養膜巨細胞 (TGCs) へ分化する過程で核内倍加に伴い見られる染色体の核内相対配置の規則性と、TGCs における遺伝子発現機構を染色体テリトリーや DNA の核内配置の観点から明らかにすることを目的とした。まず最初に、巨核化に伴う染色体の核内相対的配置の変化に規則性があるかを染色体テリトリーの観点から明らかにするために、5 番、12 番、13 番染色体をそれぞれ染色するペインティングプローブを用いて 3D-FISH 法を行い、染色体テリトリーを観察した。その結果、TGCs の約 70% の核でそれぞれの染色体テリトリーが核内に大きく拡張していた。この染色体テリトリーが核内に大きく拡張する現象は 9 番、14 番染色体においても確認された。以上の結果から、巨核化に伴い染色体テリトリーが核内に大きく拡張する現象は特定の染色体でのみ起こる現象ではないことがわかった。次に、TGCs 特異的発現を示す 2 つの遺伝子クラスター領域 (PLF 遺伝子、Cts 遺伝子) が発現する機構を、DNA の核内配置の観点から明らかにするために、BAC クローンをもとに各遺伝子座特異的にハイブリダイズするプローブを作成し、3D-FISH 法により遺伝子座の核内配置を解析した。その結果、核のサイズが小さな (DNA 量≤8C) TGCs では PLF 遺伝子領域、Cts 遺伝子領域を示す蛍光スポットは密集していたが、核のサイズが多くなるにつれ (DNA 量≥8C) 蛍光スポットが拡散していたことから、2 つの遺伝子座の距離は巨核化に伴い離れる様子が観察された。以上のことから、2 つの遺伝子座は会合しないことが予想され、これらの遺伝子座にある遺伝子の発現には会合ではない別の制御機構が存在すると考えられた。今後は、各染色体のテリトリーが拡張するにも関わらず 13 番染色体上の遺伝子が特異的に発現するかを明らかにしていきたい。</p>					
キーワード FA	栄養膜巨細胞	3D-FISH 法	DNA の核内配置	染色体テリトリー	

(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>								
	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>	
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>	
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>

Mouse trophoblast stem cells have the potency to differentiate into the placental tissue and finally into trophoblast giant cells (TGCs). TGCs have unique cell cycle called “endoreduplication” that repeat G-phase and S-phase without entering mitosis and without undergoing cytokinesis, and form polyploid. Prolactin (*Prl*) and Cathepsin (*Cts*) genes are expressed specifically in TGCs and forming huge gene clusters on mouse chromosome 13, located at 13qA3.1 and 13qB2, respectively. In the present study in order to clarify the spatially specific arrangement of these gene clusters and to elucidate how both gene clusters are regulated into their transcriptionally activation during formation of TGCs. Firstly, we examined the chromosome territory during TGCs formation using whole-chromosome painting probes (chromosome 5, 9, 12, 13 and 14). In some TGCs, chromosome 13 was not condensed. This uncondensed chromosome 13 was often detected in larger size of TGCs. Moreover, the decondensed chromosome 5, 9, 12 and 13 were detected in an independent manner. Secondary, we performed three-dimensional fluorescence *in situ* hybridization (3D-FISH) with specific BAC-clones for *Prl* and *Cts* genes. The results showed that the fluorescent spots of *Prl* and *Cts* genes were detected within the compact region in small sized TGCs ( $\leq 8C$ ), whereas these spots tended to be dispersed widely in large sized TGCs ( $\geq 8C$ ). In addition, chromosome 13 territories were often decondensed and dispersed in large sized TGCs ( $\geq 8C$ ) suggesting that chromosome territories might be disrupted during formation of TGCs. Further studies will reveal how such disruptions of chromosome territories have affect to the gene expression of *Prl* and *Cts* genes during formation of TGCs.