

哺乳類卵子のゲノム情報と初期化

●竹家 達夫¹⁾ ◆佐藤 英明²⁾ ◆小島 政芳³⁾

1) 奈良先端科学技術大学院大学 2) 東北大学大学院農学研究科 3) 富士フィルム

〈研究の目的と進め方〉

本研究は、量的に恵まれ、またin vitro maturation (IVM)やin vitro fertilization (IVF)の技術が確立されているブタならびにウシ卵巣をおもな材料として、1) 哺乳類卵子で発現する遺伝子カタログを作成するとともに、上記一連の過程で発現制御を受けている遺伝子をプロファイリング化する、2) 特にテロメアの構築とメチル化の動態およびそれらに関連する遺伝子の挙動に注目する、3) ミトコンドリアゲノムの一次構造変化／修飾と遺伝子発現を追跡する。これらの解析を通して、生殖・初期発生を担う卵子ゲノム情報の実体と動態を把握するとともに、「初期化」を理解する手がかりを得ることを目的とする。

〈研究開始時の研究計画〉

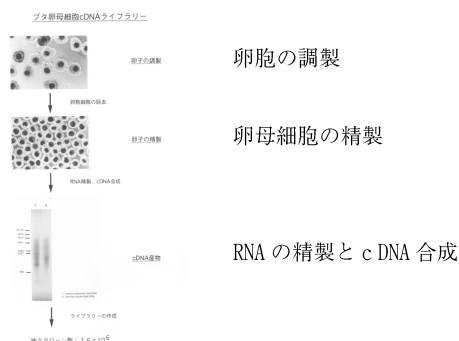
哺乳類卵子の成熟から、受精、初期卵割に至る一連の過程は、染色体の凝縮／脱凝縮、極体の放出とゲノム数の変化、メチル化などによる一次構造の修飾、遺伝子情報の発現制御など、ゲノムの静的、動的な情報がダイナミックに変動し、胚性ゲノムが成立する時期である。中でも、受精により前核が形成される過程において、除核膜、クロマチンの脱凝縮、核膜の再構築が見られる。脱凝縮反応は、プロタミンを主な構成成分とする精子クロマチン構造がコアヒストンからなるヌクレオソーム構造へと変換（再編成）する過程で、胚性ゲノム機能（インプリンティング、複製、転写など）が成立する上で必須である。

精子クロマチンの脱凝縮反応に関しては、これまで、*X. laevis*の卵から脱凝縮活性をもつ蛋白質としてnucleoplasminが同定されている。*X. laevis*の卵抽出液と哺乳類精子を用いた実験でも脱凝縮反応が見られることから、哺乳類卵にも同様の活性因子の存在が予想されるが、その実体は全く不明である。

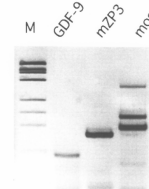
本研究は、我々が独自にブタ卵子から作成を試みているcDNAライブラリーを用いて、nucleoplasmin様構造（活性）すなわちシャペロンとしてのポテンシャルを有する遺伝子を確認する。さらに、同定した因子の遺伝子産物については、適当な発現系を利用して大量に産生し、精製した標品とブタ精子を用いて、脱凝縮反応機構を分子レベルで解析する。

〈研究期間の成果〉

A) ブタ卵母細胞 cDNA ライブラリーの作成

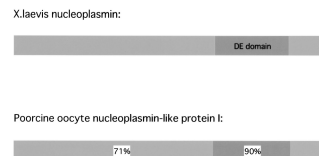


B) ライブラリーの検定



卵母細胞で発現が報告されている遺伝子がライブラリーに含まれていることを確認した

C) ブタnucleoplasminのクローニング



ライブラリーから *X. laevis* の nucleoplasmin をプローブとして相似遺伝子をスクリーニングした。

〈国内外での成果の位置づけ〉

本研究は1年間でストップせざるを得なかったが、その後、外国のグループからマウスnucleophosmin/nucleoplasminのクローニングとノックアウトマウス作成の報告があり、卵形成・生殖初期過程の異常が報告された。

〈達成できなかったこと、予想外の困難、その理由〉

以上の成果を残しながら、残念ながら1年間でストップせざるを得ず、研究が中断のままになってしまった。

〈今後の課題〉

標記課題での研究は停止したが、その過程で得られたライブラリーなどを他の研究のための材料として活用していきたい。

〈研究期間の全成果公表リスト〉

本研究課題での発表はなし。