

哺乳類初期胚で特異的に発現している遺伝子群とそのゲノム上での分布の解析

洪 実 (Minoru Ko)

ゲノム非対称性グループ、グループリーダー (1996-1998)

哺乳類の卵子は、授精後、2細胞、4細胞、8細胞、16細胞と分裂増殖し Blastocyst とよばれる 32 - 64 細胞の胚となった後に母親の子宮内に着床する。この一見単純な発生過程が、実は哺乳類の発生において最も大切な時期であり、ここで一番最初の細胞分化である内部細胞塊 (ICM) と栄養芽細胞 (TE) への二方向への分化がおこる。内部細胞塊は将来、胎児そのものとなり、栄養芽細胞は後にその胎児の成長をサポートする器官である胎盤となる。これは人やマウスなどの哺乳類に特異的な器官であり、また、遺伝子欠損変異マウスの多くが胎児そのものの欠陥よりは、むしろ胎盤機能の欠陥の為に胎児死をおこすことから、哺乳類の発生、進化におけるその重要性は明らかである。しかし、哺乳類胚が余りにも小さいために分子生物学的研究に必要なだけの量を集めることが困難であることや、人の初期胚を集めて解析することに伴う倫理的問題のために、これまで哺乳類初期胚の研究は非常に困難であった。そのため、授精後どのように胚発生が進むのかということに関して、分子レベルでのメカニズムはほとんどわかっていなかったといえる。

そこで、私達はマウスの着床前胚をゲノムスケールで解析することで、この分野の飛躍的な発展の基礎を作ることを試みた。幸い少ない細胞から出発して、cDNA (遺伝子) ライブラリーを作る技術を確認していたので、各発生段階の細胞から出発して、良質の cDNA (遺伝子) ライブラリーをつくることに成功した。そこで、未受精卵から 3096 個、受精卵から 3314 個、2細胞胚から 3687 個、4細胞胚から 3011 個、8細胞胚から 3443 個、16細胞胚から 3195 個、Blastocyst 胚から 5692 個の遺伝子クローンの部分塩基配列を決定した。その結果 9718 個の重複の無い遺伝子クローンのコレクションが得られた。現在、哺乳類遺伝子の総数は 40000 個から 100000 個と見積もられているので、その 4 分の 1 から 10 分の 1 の遺伝子がここにカタログ化されたことになる。これらの遺伝子の 80% 近くが本研究で始めて発見されたものであり、これは哺乳類初期胚で働いている遺伝子の解析がこれまであまりなされてこなかったことを示唆していると思われる。また、この約 10000 個の遺伝子のカタログを基にして、各遺伝子がそれぞれのステージでどの程度発現しているかを見積もったところ、発生段階特異的に発現している遺伝子がかかなりあることが判明した。例えば、未受精卵や受精卵で発現しておらず、2細胞胚で高い発現を示し、4細胞胚以降では発現がなくなってしまう遺伝子が見つかった。同様に、未受精卵に特異的に発現しているものや、受精卵に特異的に発現しているものなど、各発生段階で特異的な発現を示すものがそれぞれ数個ずつ見つかった。これらの遺伝子では細胞が分裂するたびに、特異的に発現のスイッチが入ったり切れたりしていることになるが、そのような発現パターンを示す遺伝子が存在していることは本研究で始めて明らかとなっ

た。これらの遺伝子はほとんどが未知のもので、現在さらに詳しく解析中である。これらの遺伝子は、哺乳類初期胚で各発生段階を前へ前へと推し進める役割を果たしている重要な遺伝子である可能性が高く、今後さらに研究を進めていきたい。

本研究では、こうして得られた新しい遺伝子のうち 798 個を異種間交雑マウスのパネルを用いてマウスのゲノム上にマップした。その結果は、既に様々な病気の原因遺伝子の同定に使われ始めているが、さらに、遺伝子の発現パターンとゲノム上での個々の遺伝子の散らばり具合について興味深いことが見つかった。それは、同じ時期場所で発現している遺伝子はゲノム上でクラスターとして存在していることが多いということである。おそらく、ゲノム上で近くにあるほうが協調的に発現をコントロールしやすいためであると思われるが、ゲノムの複製における非対称性などが原因となってそのように進化してきた可能性もある。マクロなレベルでのゲノム上での遺伝子のオーガナイゼーションについては、ほとんどわかっていないので、今後さらに研究を進めていきたい。

これらの新しい遺伝子のコレクションは、15000 個の重複の無い遺伝子のコレクションの一部として cDNA マイクロアレイ（チップ）として利用され始めており、今後マウス遺伝学、発生学における根本的な手段となることが期待される。

発表論文

1. Ko MSH, Kitchen JR, Wang X., Threat TA, Wang X, Hasegawa A, Sun T, Grahovac MJ, Kargul GJ, Lim MK, Cui Y, Sano Y, Tanaka T, Liang Y, Mason S, Paonessa PD, Sauls AD, DePalma GE, Sharara R, Rowe LB, Eppig J, Morrell C, Doi H (2000). Large-scale cDNA analysis reveals phased gene expression patterns during preimplantation mouse development. **Development** 127, 1737-1749.
2. Tanaka TS, Jaradat SA, Lim MK, Kargul GJ, Wang X, Grahovac MJ, Pantano S, Sano Y, Piao Y, Nagaraja R, Doi H, Wood 3 WH, Becker KG, and Ko MSH (2000). Genome-wide expression profiling of mid-gestation placenta and embryo using 15000 mouse developmental cDNA microarray. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA** 97, 9127-9132.