

令和6年4月18日

各報道機関 御中

国立大学法人山梨大学

受精卵の遺伝子発現を同定 — 全能性の解明に新たな知見

ポイント

- ① 新技術の開発により全能性をもつ受精卵が産生するRNAを高感度で同定。
- ② 受精直後に発現するObox3遺伝子が全能性獲得を促すことを発見。
- ③ 全能性の解明のみならず不妊・流産の原因解明など生殖医療への貢献が期待される。

概要

山梨大学大学院総合研究部生命環境学域の石内崇士准教授、同大学院博士課程の坂本瑞季（大学院生）、同大学院総合研究部発生工学研究センターの若山照彦教授、九州大学生体防御医学研究所・高等研究院の佐々木裕之特任教授・特別主幹教授らの研究グループは、新たな解析技術を開発することでマウス受精卵が発現する遺伝子群を高感度で同定し、これまで不明であった受精卵の遺伝子発現の実体を明らかにしました。本研究成果は2024年4月15日、米国の科学雑誌「Cell Reports」に掲載されました。

精子と卵子の受精により形成される受精卵は個体を構成するすべての細胞の源であり、全能性を持つとされます。遺伝子はRNA、タンパク質へと転写、翻訳されることで機能を果たしますが、これまで受精卵においてどの遺伝子がRNAへと転写されているのかは不明でした。これには受精卵がもつ特有の性質が関わります。すなわち、受精卵には受精前の卵子から持ち込まれたRNA（母性RNA、※1）が多く存在する一方で、受精卵自身が産生する胚性RNAはきわめて微量です（図1上段）。そこで本研究グループは新しいRNA解析技術LET-seq法を開発し、受精卵の産生するRNAを高感度で検出することに成功しました（図1下段）。

その結果、約6,000個の遺伝子が受精卵において産生されることを見出しました。さらに、これら遺伝子に共通する特徴を探索することによりObox3と呼ばれる転写因子（※2）が受精卵の遺伝子発現調節に重要な役割を果たすこと、さらに、Obox3を人為的に導入することで発生の困難な体細胞核移植胚（クローン胚、※3）の発生が大幅に改善されることを明らかにしました（図2）。

今回の発見は、受精卵の遺伝子発現の実体を詳細に明らかにしたものであり、将来的に不妊・流産の原因解明など、生殖医療に役立つことが期待されます。

【参考図】

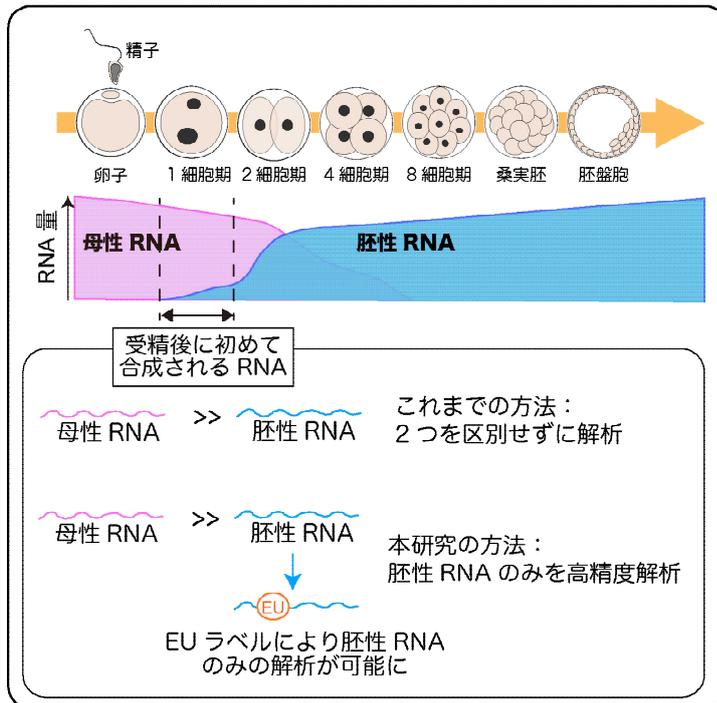


図1. マウス受精卵における遺伝子発現と本研究で開発した手法

精子と卵子が受精した後の受精卵において、卵子由来のRNA（母性RNA）が大部分を占めており、受精直後に合成されるRNA（胚性RNA）は相対的にごく微量です。しかし、微量でありながらも胚性RNAは発生に必須であることがわかっています。そこでその実体解明のために新たな技術を開発しました。遺伝子の発現には、DNAを鋳型としてRNAが合成される「転写」が必要です。受精卵の培養培地にエチニルウリジン（EU、※4）を添加すると、RNA合成の過程でEUが取り込まれます。一方で、受精卵に存在している母性RNAにはEUは取り込まれません。EUが取り込まれたRNAのみを抽出し、その配列を解読することで、受精卵の産生するRNAを同定することができます。本研究では、受精卵に短時間のEU処理を施し、その時期にのみ合成されるRNAをEUでラベルすることで、受精後に初めて発現する遺伝子群を明らかにしました。

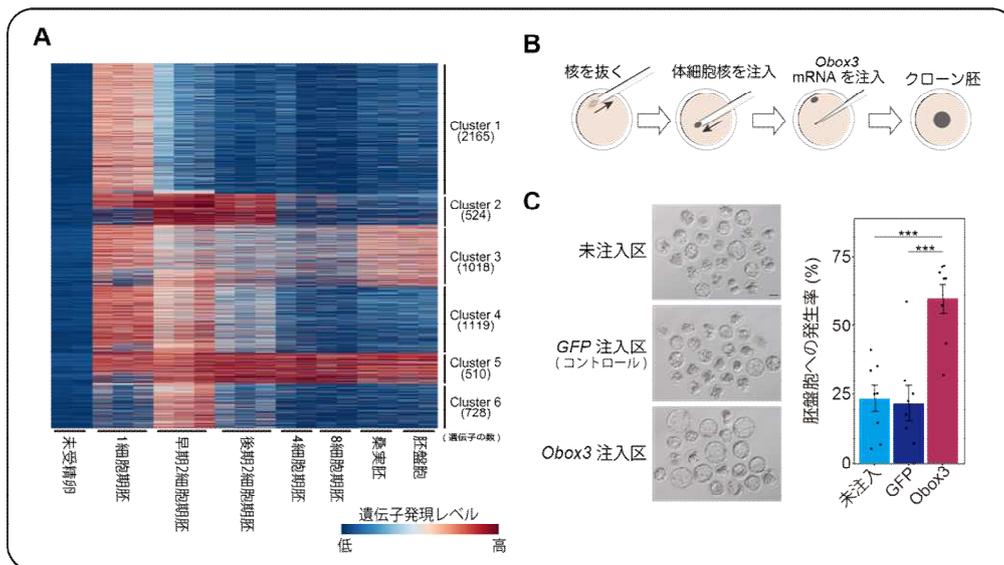


図2. 受精卵の新生 RNA の発現レベルと Obox3 によるクローン胚の発生率改善

- A. 受精後胚が合成するRNAの発現レベルを示すヒートマップ。発現レベルが高いほど赤く表されます。また、各遺伝子はその発現パターンごとにクラスター分けされています。受精直後に強くに発現が促されるクラスター2の遺伝子群では、Obox3が結合するDNA配列が高頻度に見られました。
- B. 体細胞核移植（クローン）胚作製とObox3過剰発現実験の概念図。まず未受精卵から核を除き、その後、体細胞核を注入することでクローン胚が作られます。Obox3のmRNA（※1）を注入し、発生の困難なクローン胚への効果を検討しました。
- C. Obox3 mRNAを注入したクローン胚の胚盤胞率を示す画像と棒グラフ。Obox3 mRNAを注入したクローン胚は、mRNA未注入およびGFPのmRNA注入（mRNA注入の実験対照区）よりも高い胚盤胞率を示しました。このことは、Obox3が全能性の獲得に重要な働きをすることを示唆します。

【用語解説】

※1 RNA

DNAを鋳型として合成される核酸物質で、アデニン、ウラシル、グアニン、シトシンの4種類の塩基によって構成されます。タンパク質を合成するための鋳型になるRNAをメッセンジャーRNA (mRNA) と呼びます。

※2 転写因子

遺伝子の発現を調節するタンパク質です。標的DNAに結合し、遺伝子の転写を上げたり下げたりします。

※3 体細胞核移植技術（クローン技術）

未受精卵から核を取り除き、その卵子に体細胞核を注入する手技です。受精を経ずに体細胞から個体を形成でき、体細胞に対して全能性を付与することのできる唯一の方法です。しかしながらクローンの発生率は低く、全能性の獲得に異常があるとされています。

※4 エチニルウリジン (Ethyneyl Uridine; EU)

RNAを構成するウラシルに相当する構造類似体。RNA合成中に取り込まれます。

【研究助成】

科学研究費新学術領域研究「全能性プログラム」(JP19H05756)

特別推進研究(JP18H05214)

武田科学振興財団

持田記念医学薬学振興財団

内藤記念科学振興財団

上原記念生命科学財団

【論文情報】

掲載誌：Cell Reports

タイトル：Detection of newly synthesized RNA reveals transcriptional reprogramming during ZGA and a role of Obox3 in totipotency acquisition

著者名：Mizuki Sakamoto, Aoi Ito, Sayaka Wakayama, Hiroyuki Sasaki, Teruhiko Wakayama, Takashi Ishiuchi

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211124724004467>

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.114118>

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

山梨大学 大学院総合研究部 生命環境学域生命工学科

准教授・石内崇士(いしうち たかし)

TEL:[055-220-8539](tel:055-220-8539)

E-mail: tishiuchi@yamanashi.ac.jp

(報道に関すること)

山梨大学 総務企画部 総務課 広報・渉外室

TEL:[055-220-8005](tel:055-220-8005), [8006](tel:055-220-8006)

E-mail: koho@yamanashi.ac.jp