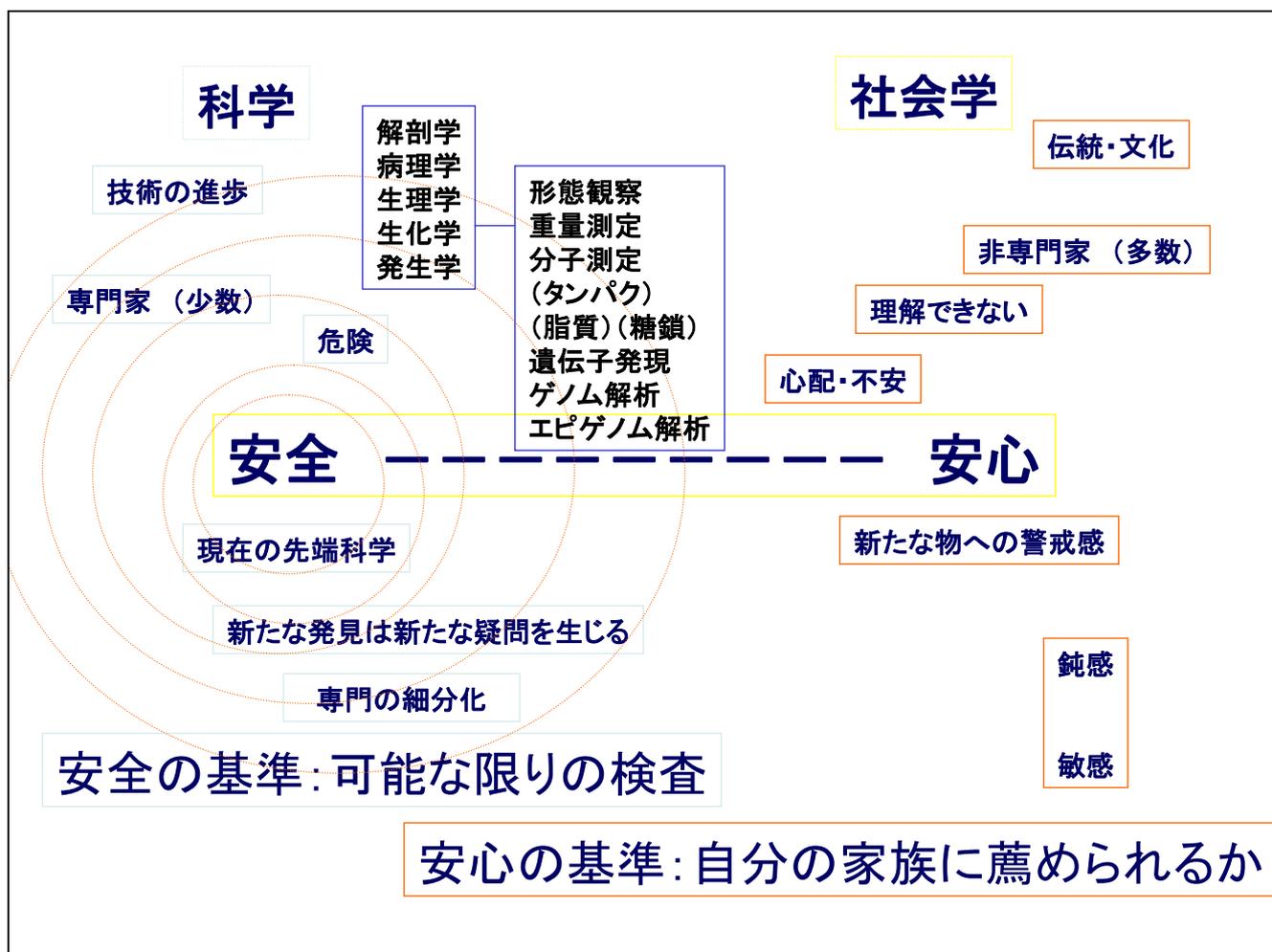


食品安全委員会
新開発食品専門調査会ワーキンググループ
(体細胞クローン家畜由来食品)(第2回)
2008年6月2日

クローン動物のエピジェネティクスについて

塩田 邦郎
東京大学大学院農学生命科学研究科
応用動物科学専攻・獣医学専攻



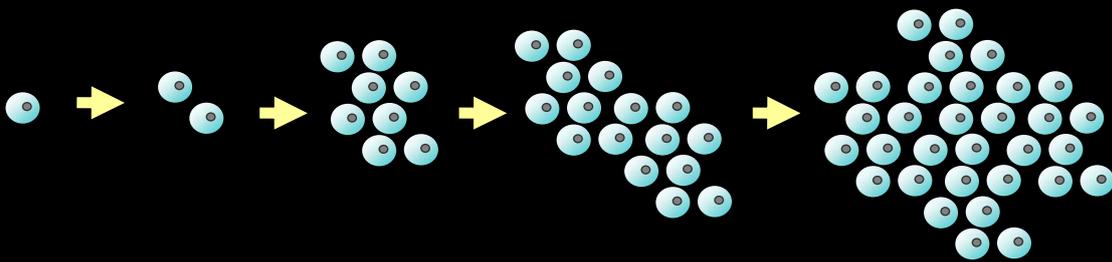
1. エピジェネティクスとは

2. 生殖と個体の発生

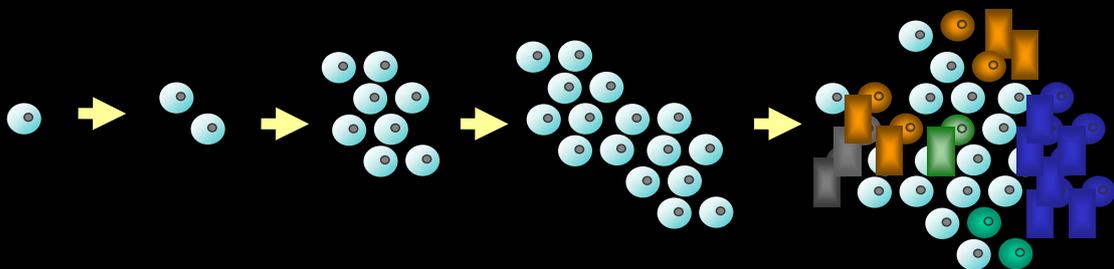
3. クローン動物の
エピジェネティクス

4. まとめ

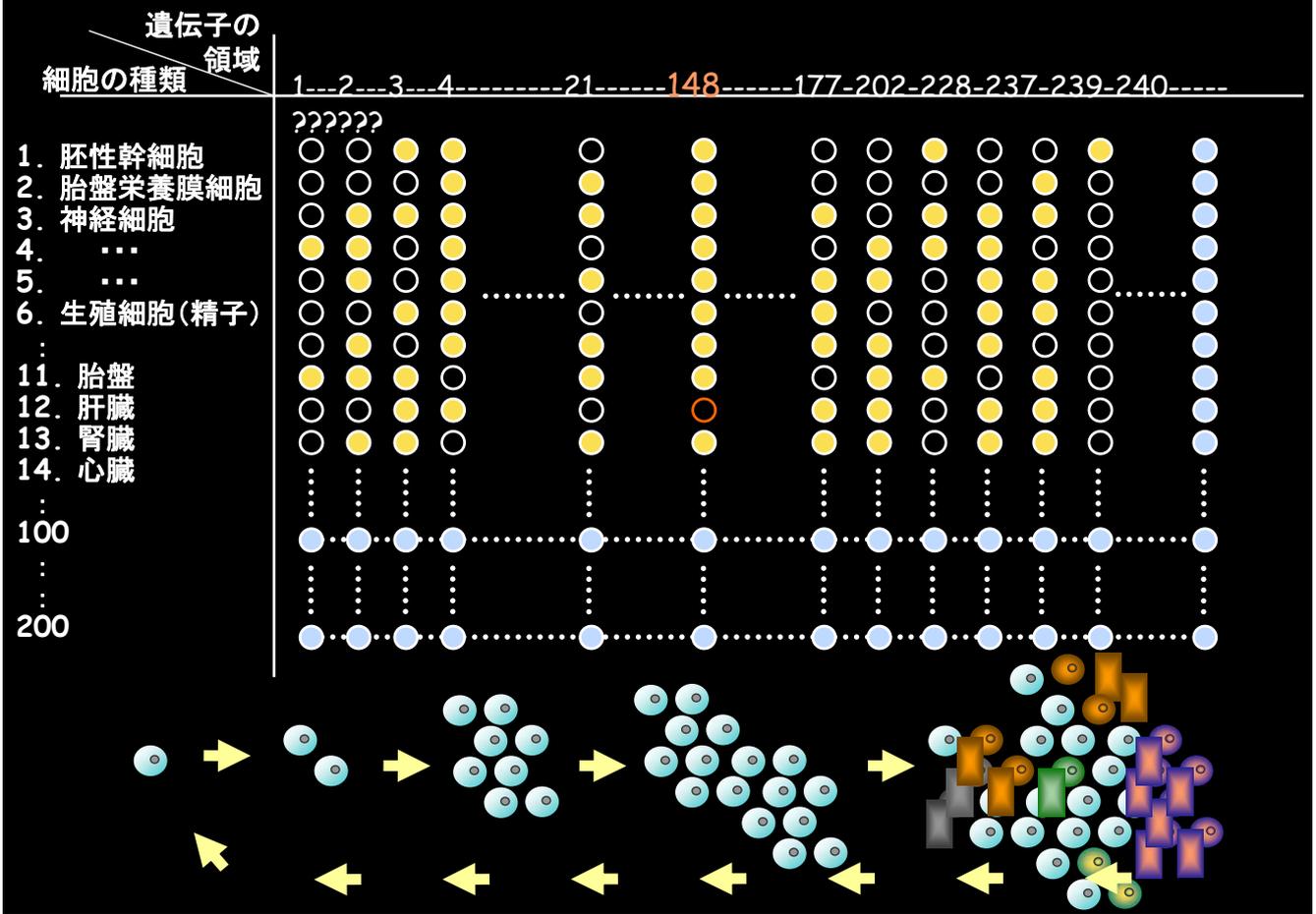
単細胞生物 (大腸菌: 4.6 Mb)



多細胞生物 (マウスゲノム: 2,500 Mb)



細胞の種類により異なるDNAメチル化模様



様々な細胞の例

肉： 筋細胞

脂肪： 脂肪細胞

血管： 血管内皮細胞、平滑筋

脳： 神経細胞、グリア細胞

エピジェネティクス

DNAの塩基配列の変化を伴わず、細胞分裂後も継承される、
遺伝子機能を研究する学問領域

主な制御： DNAメチル化、ヒストン修飾 ⇒ クロマチン構造変化



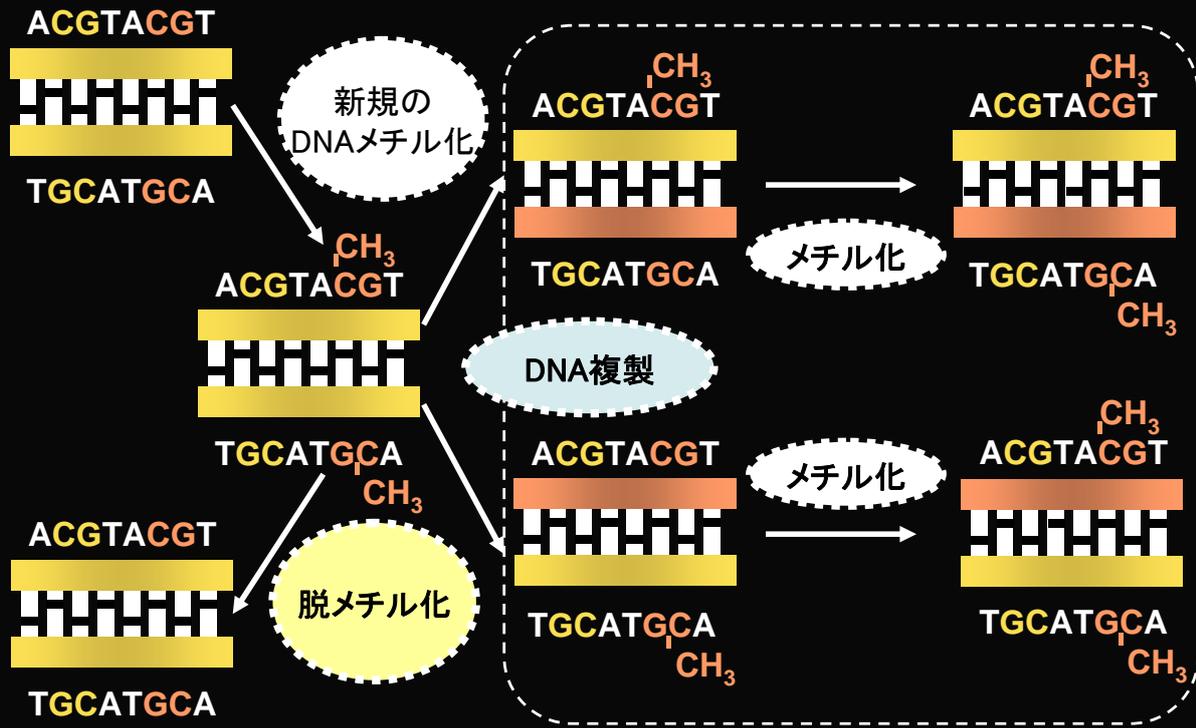
哺乳類ゲノムのDNAメチル化

DNA methylation in mammalian genome

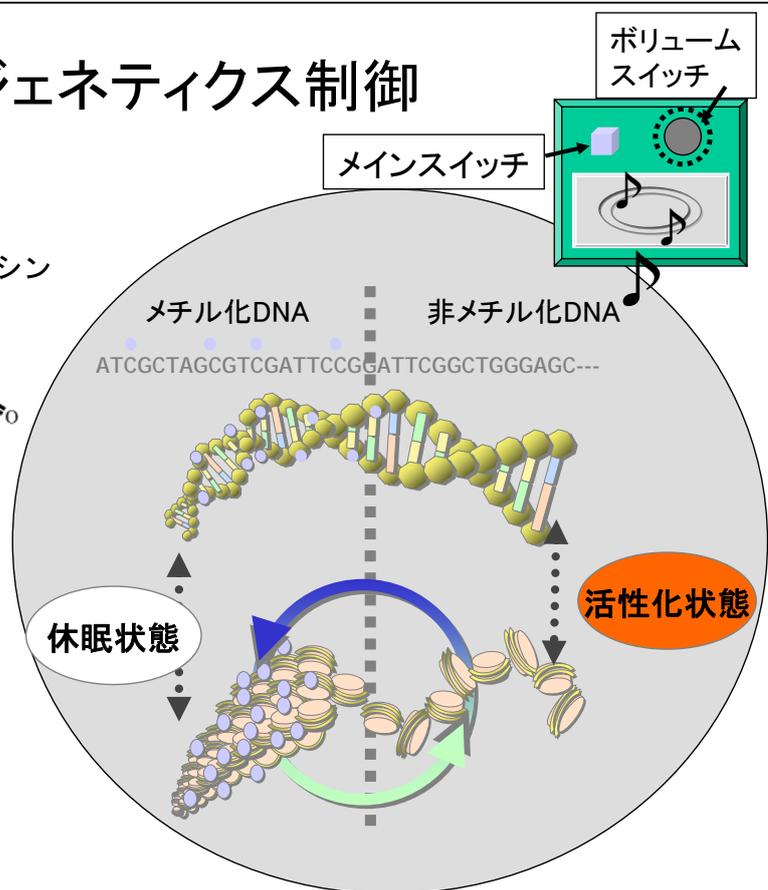
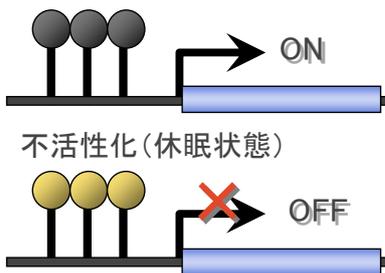
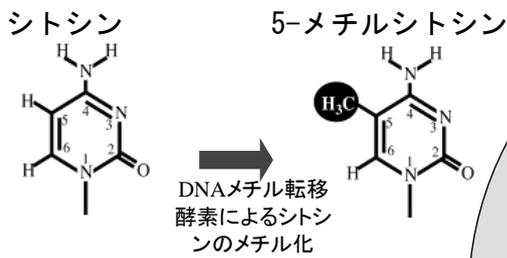


- ・DNAメチル化は、主に、CG配列 (CpGと略) に見られる。
- ・DNAメチル化パターンは次世代細胞に受け継がれる。
- ・DNAメチル化は、多くの場合、遺伝子発現を抑制する。

DNAメチル化とメチル化パターンの維持



エピジェネティクス制御



DNAメチル化とヒストン修飾によるクロマチン構造変化

エピジェネティクスの位置づけ

ゲノムDNA: ゲノムプロジェクトおよびSNPs

遺伝子塩基配列情報
(体中の全細胞で同じ)
不変・安定

エピジェネティクス情報
DNA メチル化・クロマチン構造
エピゲノム解析

メイン・スイッチ情報
(細胞により異なる)
発生・分化に伴い変化し固定
され遺伝子発現記憶となる
⇒ 変化・安定

トランスクリプトーム解析

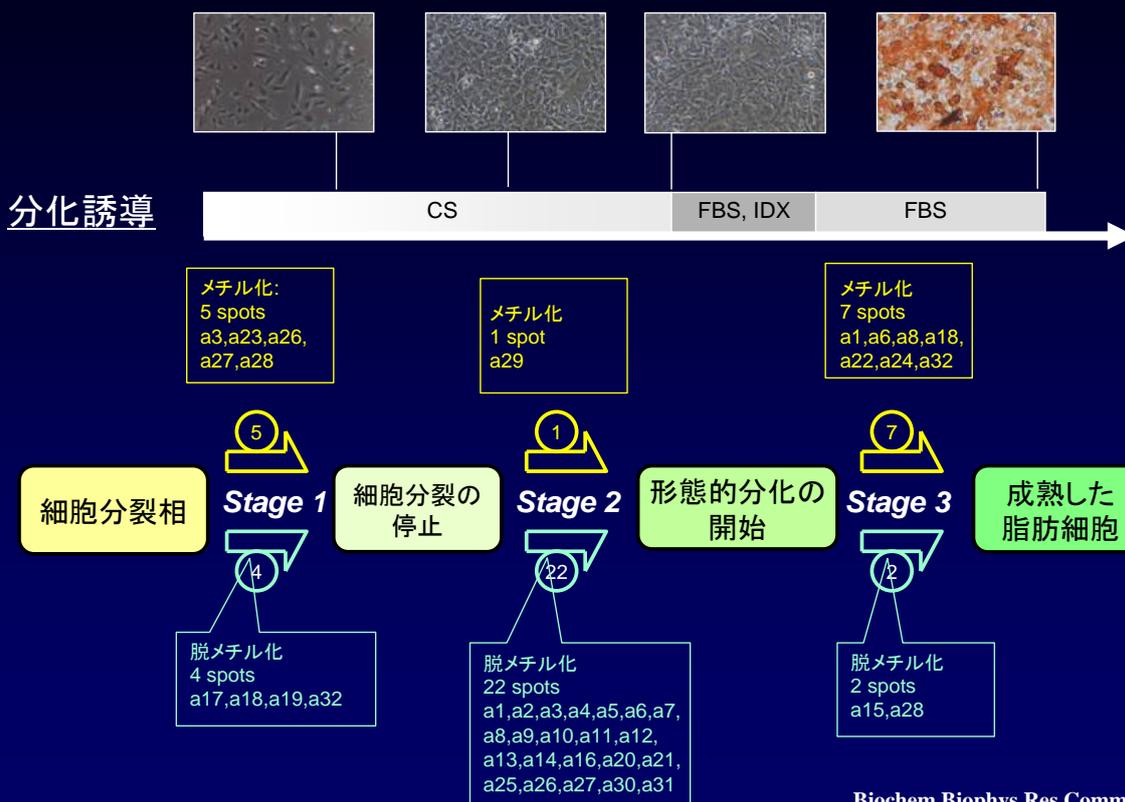
発現情報
(細胞により異なる)

タンパク立体構造解析
糖鎖機能解析

現場情報
(細胞により異なる)

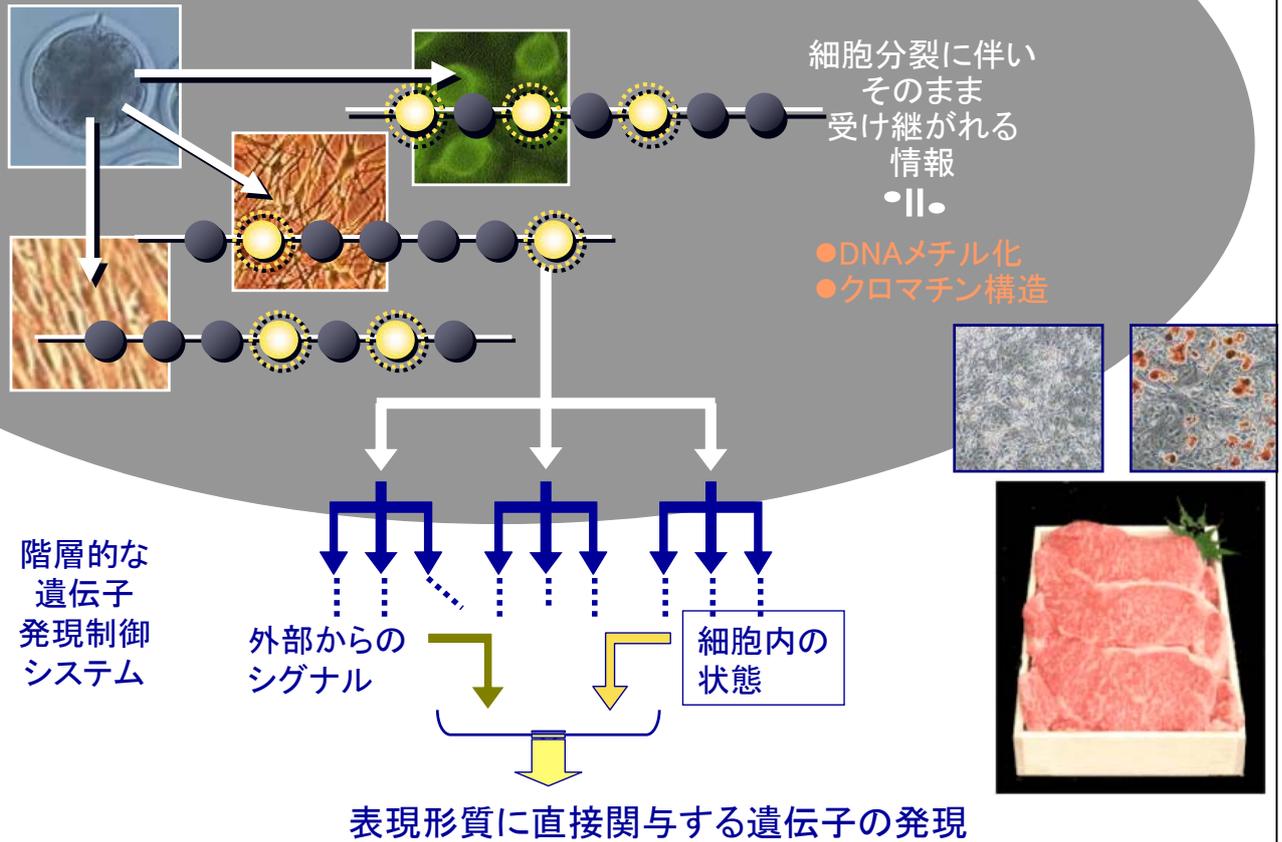
メタボローム解析

脂肪細胞への分化 (3T3-L1) に伴うエピジェネティクス変化



Biochem Biophys Res Comm
366:369 (2008) (Sakamoto et al.,)

エピジェネティック:ゲノム活動の記憶システム



エピジェネティクスは新たな生命
科学のパラダイムである

1. エピジェネティクスとは

2. 生殖と個体の発生

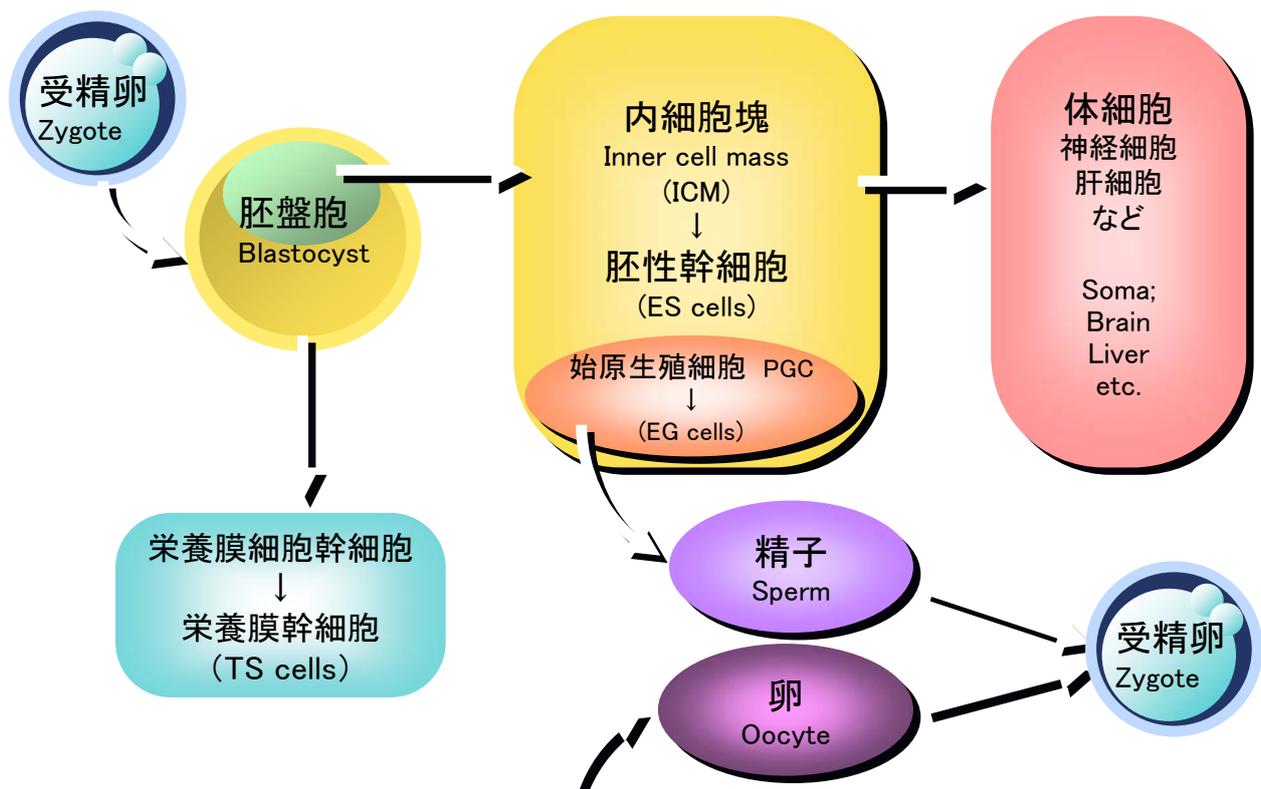
3. クローン動物の

エピジェネティクス

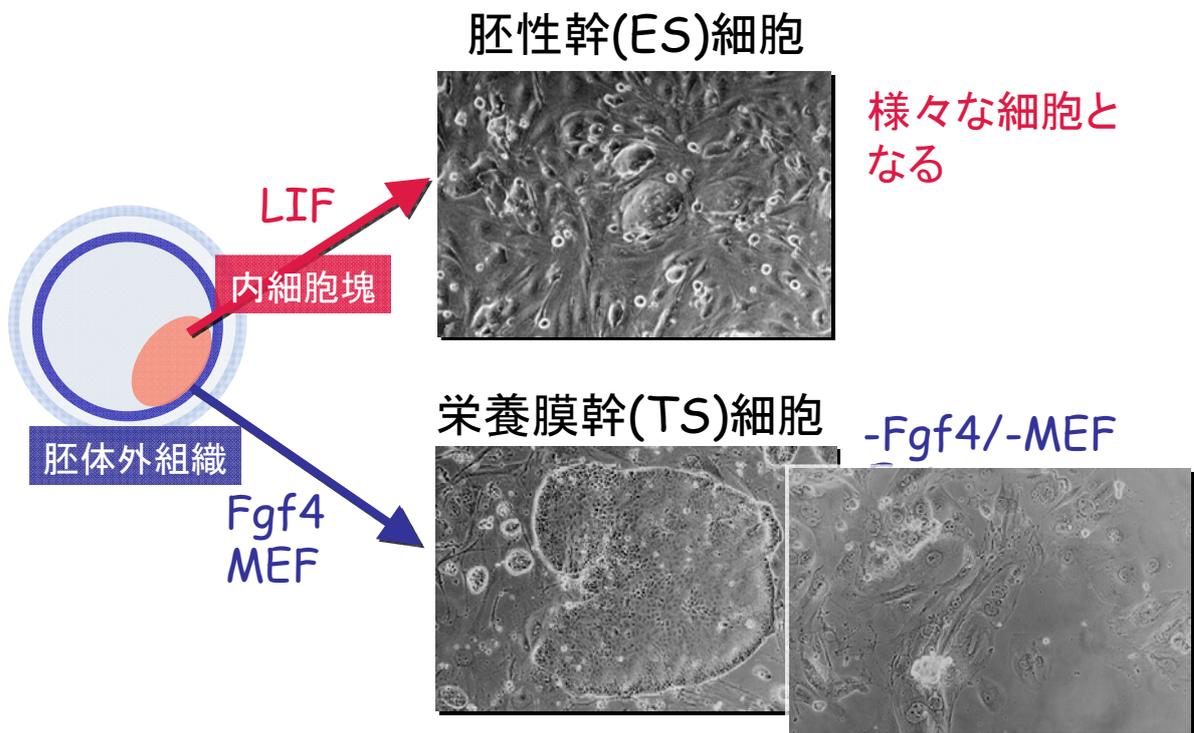
4. まとめ

1個の受精卵から数百種類の細胞で構成される個体が作られる

A single fertilized egg give rise to a complex multi-cellular organisms.

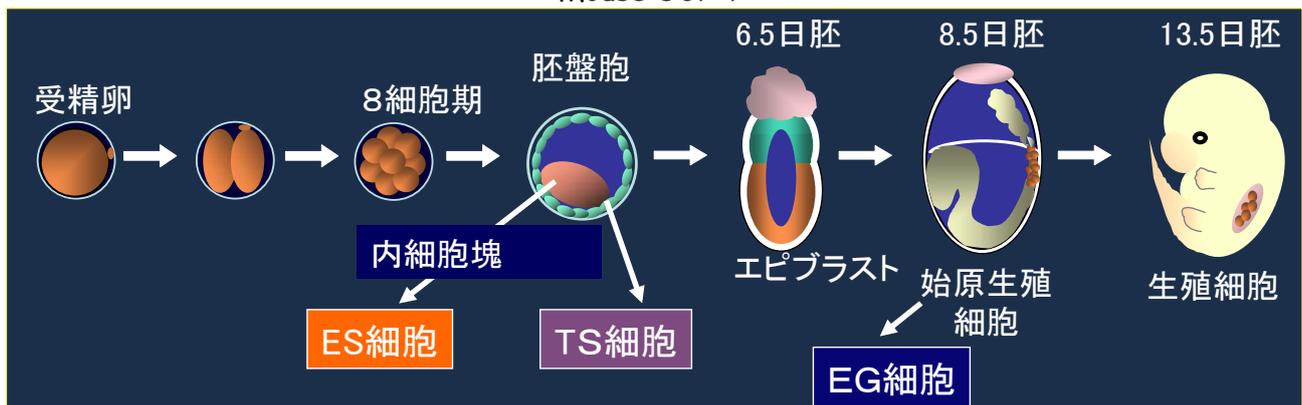


マウス初期胚由来の幹細胞



マウス *Oct-4* 遺伝子

Mouse Oct-4

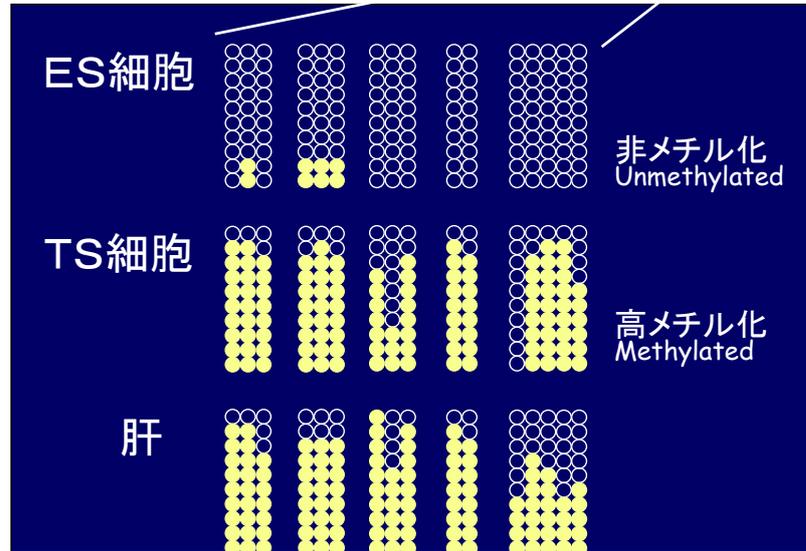
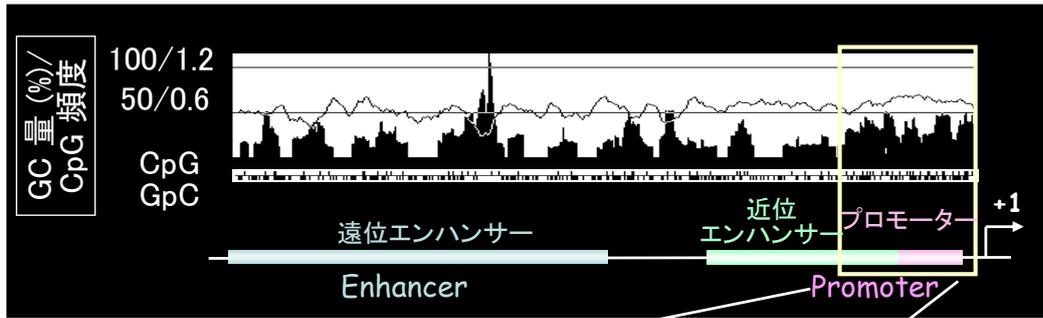


- ・POU転写因子ファミリーのメンバー.
- ・上流はTATA配列を欠き、豊富なGC配列を有する(Okazawa, 1991).
- ・着床前胚、ES細胞で発現、胚体外組織やTS細胞では発現しない (Tanaka *et al.*, 1998).

⇒着床前胚や内細胞塊の多分化能.に關与

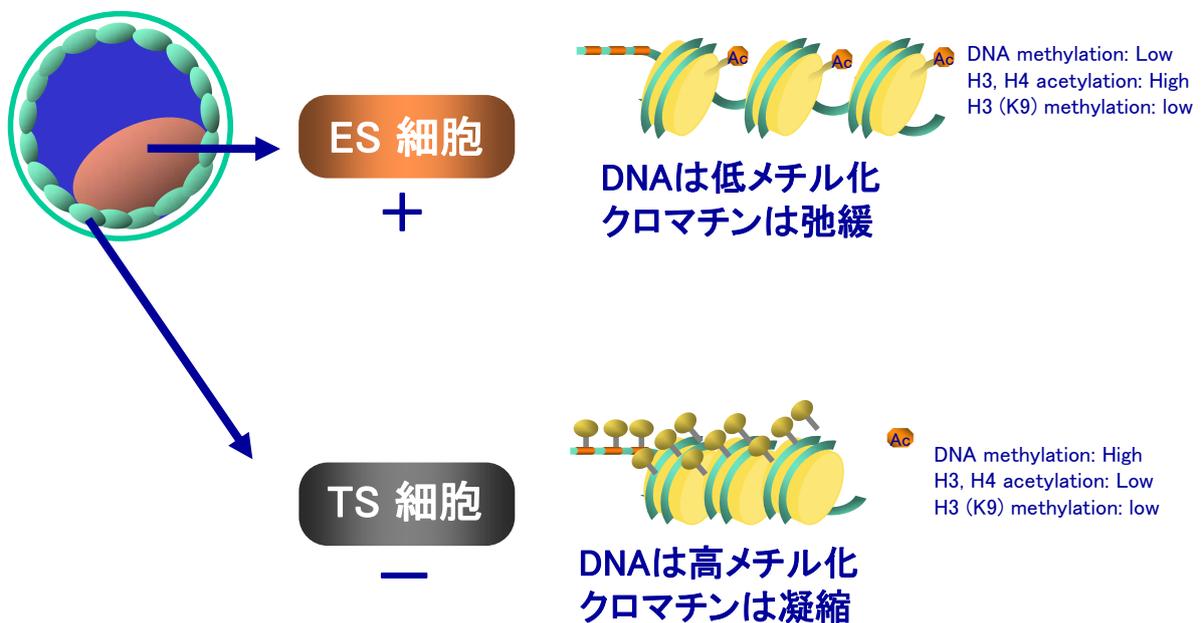
(Martin *et al.*, 1981; Nagy *et al.*, 1990, Parmieri *et al.*, 1994)

Oct-4 遺伝子のDNAメチル化状況



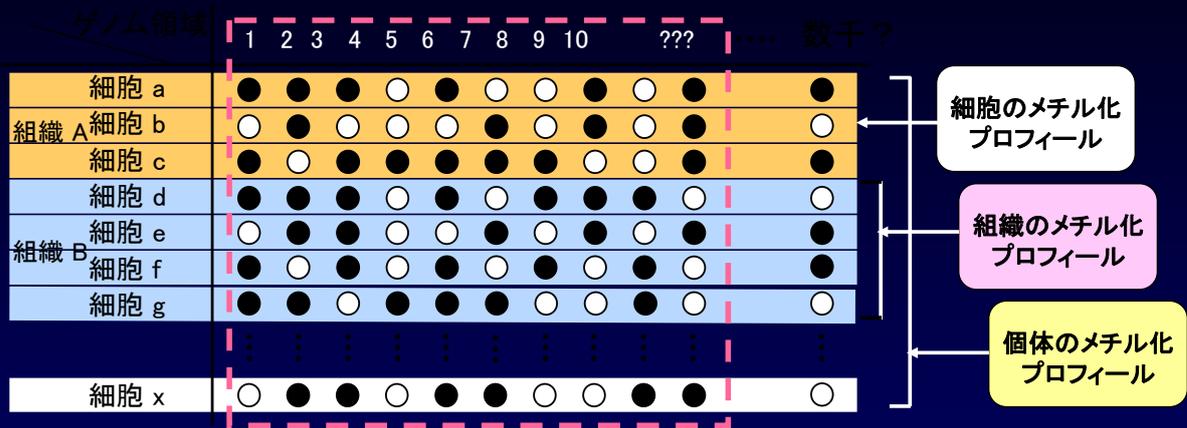
Oct4遺伝子領域のエピジェネチクス状況

Oct-4 遺伝子発現



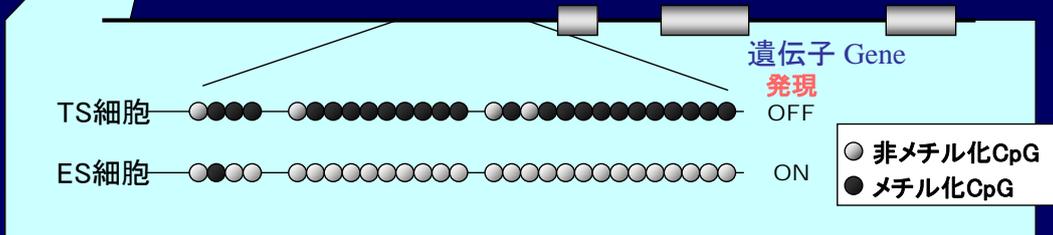
DNAメチル化プロフィール

DNA methylation profile



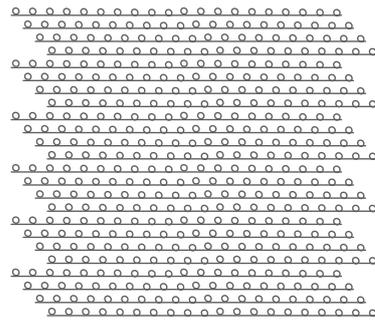
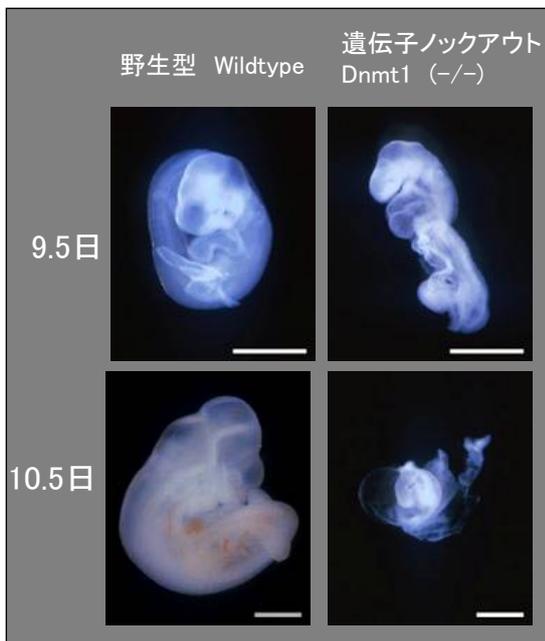
DNAメチル化パターン
DNA methylation pattern

例: Oct4遺伝子など

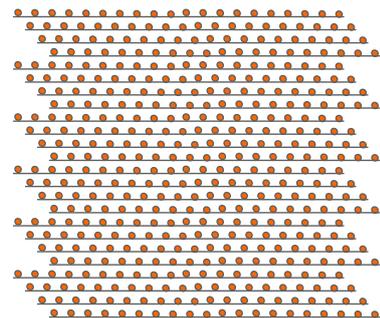


ゲノム全域の完全メチル化・非メチル化細胞は生存できない

DNAメチル転移酵素遺伝子欠損マウス



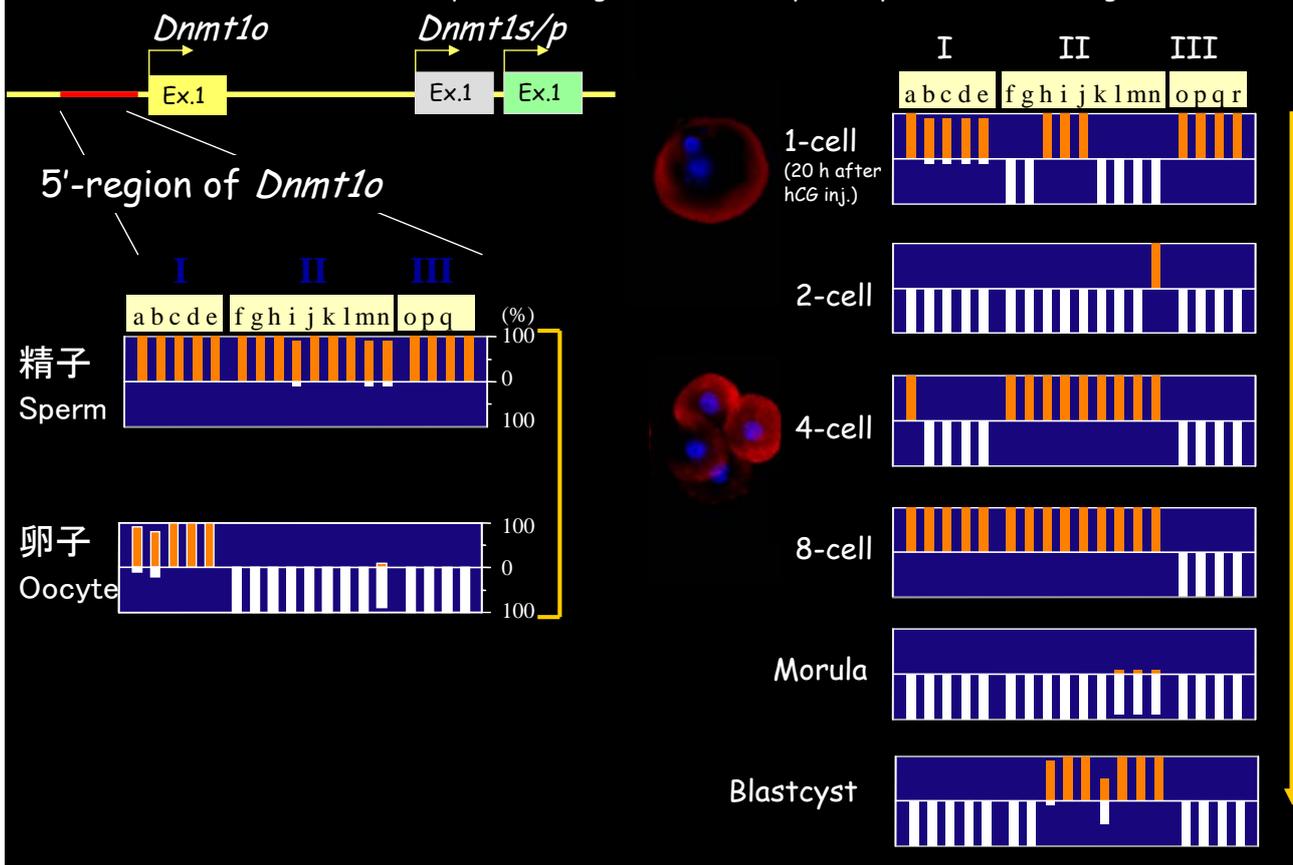
全領域の非メチル化 ⇒ 細胞死



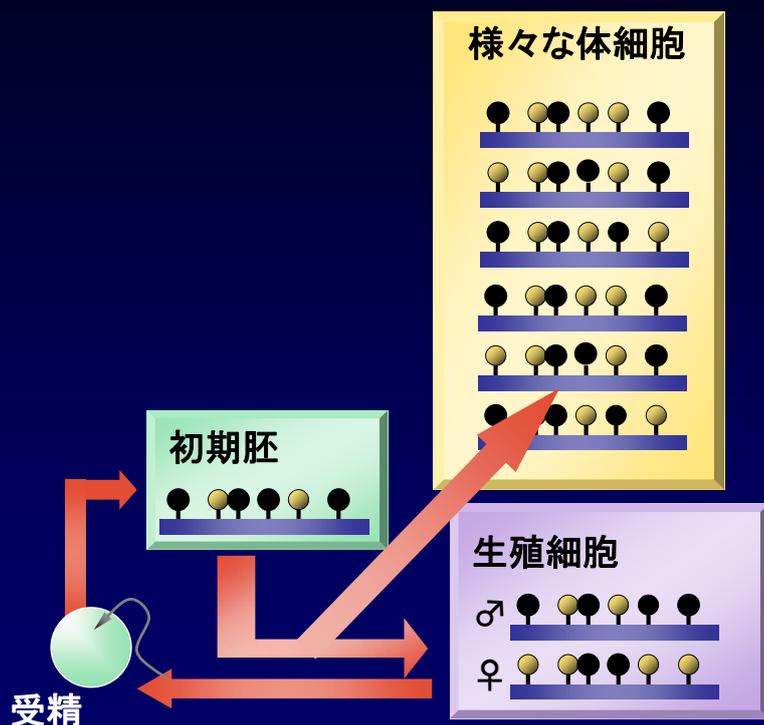
全領域のメチル化 ⇒ 細胞死

受精に伴うDNAメチル化パターンのダイナミックな変化 (例 *Dnmt1o*)

Fertilization induces dynamic change of DNA methylation pattern in *Dnmt1o* gene



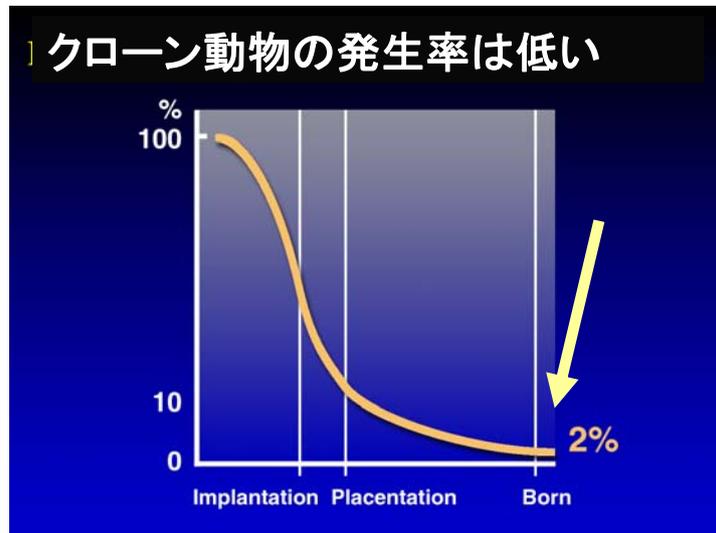
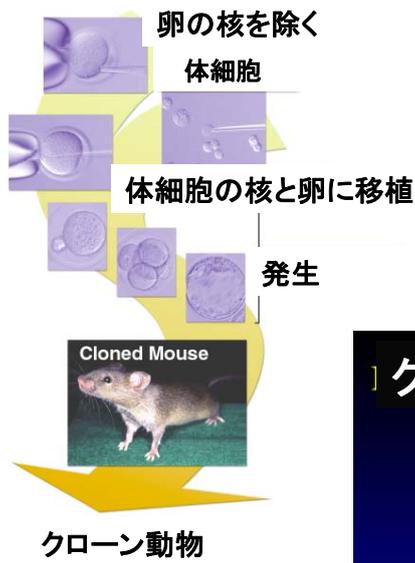
動物発生のエピジェネティクス



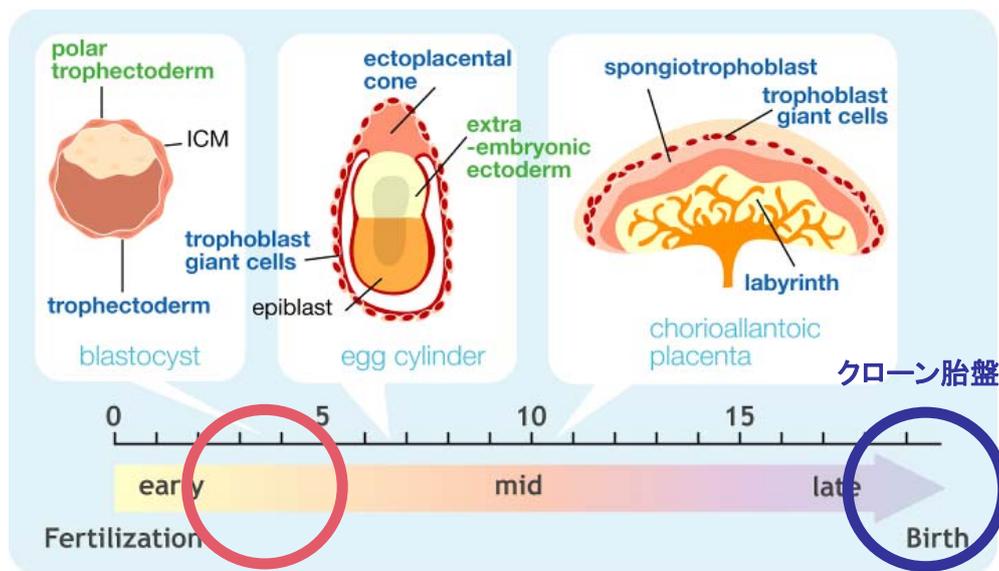
エピジェネティクスの変化により体が出来上がる。

エピジェネティクスは正常発生のメカニズムとして重要である。

1. エピジェネティクスとは
2. 生殖と個体の発生
3. クローン動物の
エピジェネティクス
4. まとめ

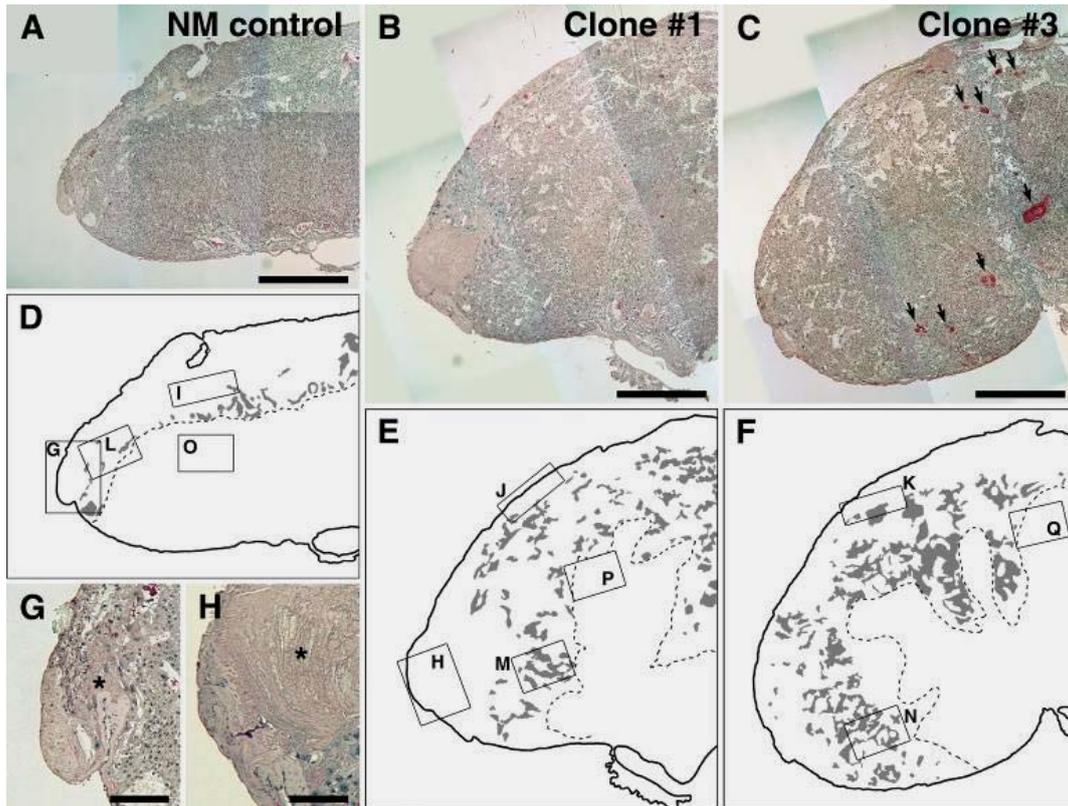


栄養膜細胞系譜は発生のも最も早期に分化する



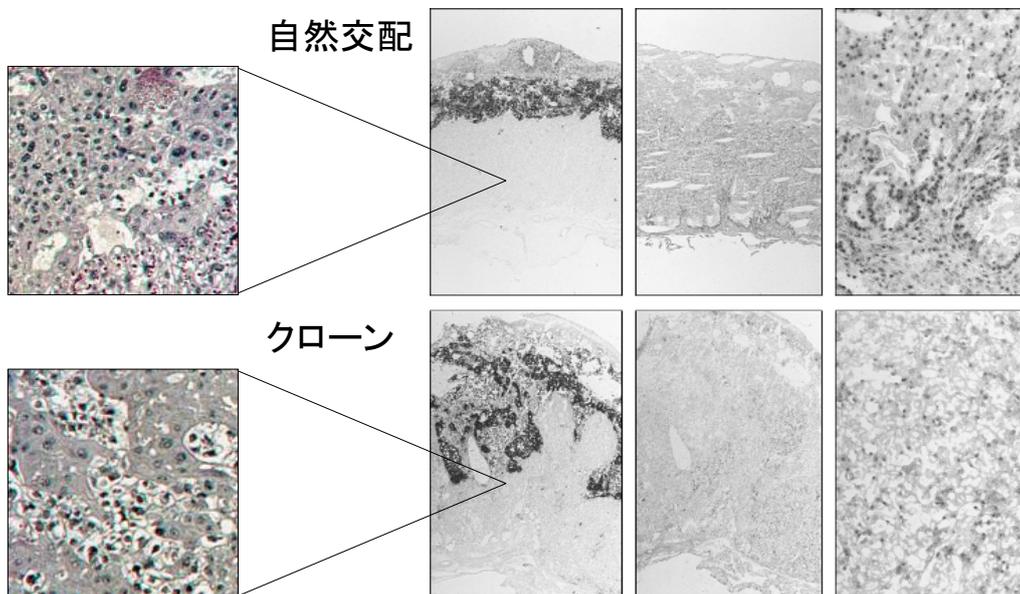
栄養膜細胞系譜は胚盤胞期に胚体細胞系譜と分かれてできる。
そして、胎生中期までに胎盤の基本構造は完成する。

クローンマウスの胎盤組織像



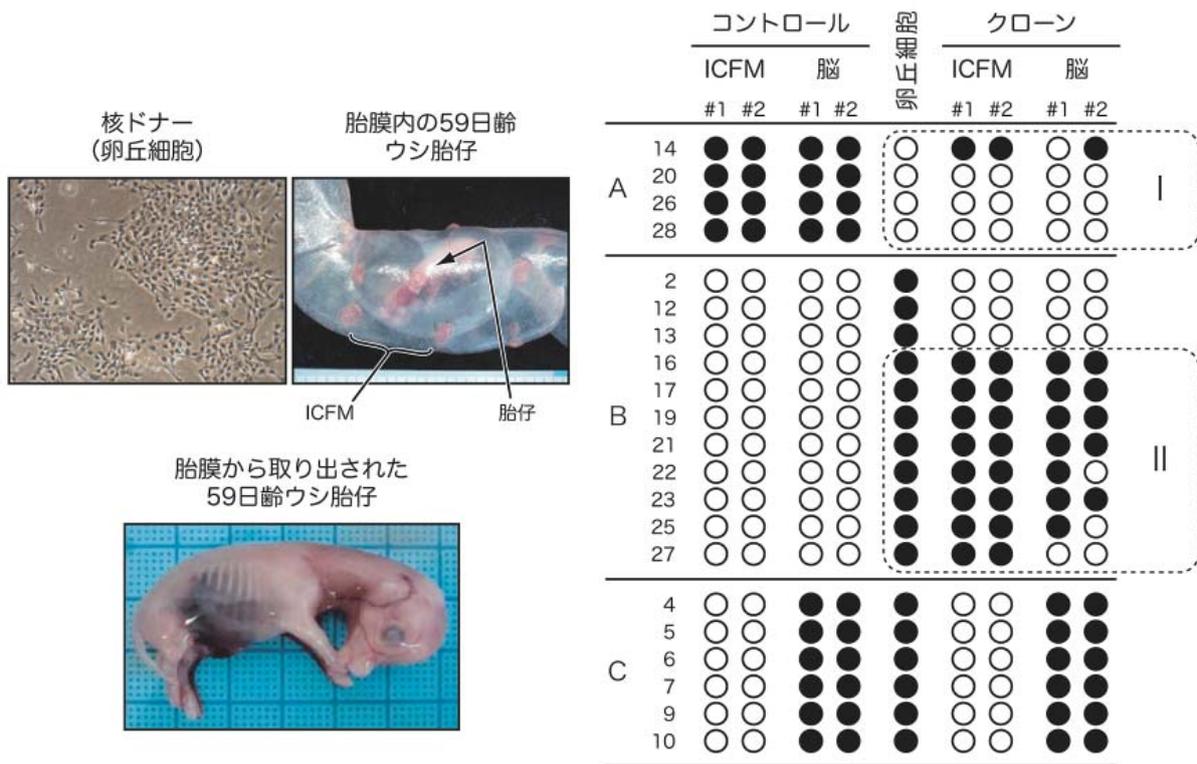
体細胞核移植クローンマウスの胎盤異常

クローンマウスの胎盤過形成には、
海綿状栄養膜細胞の異常な増殖や迷路部層栄養膜細胞の形態異常を伴う。



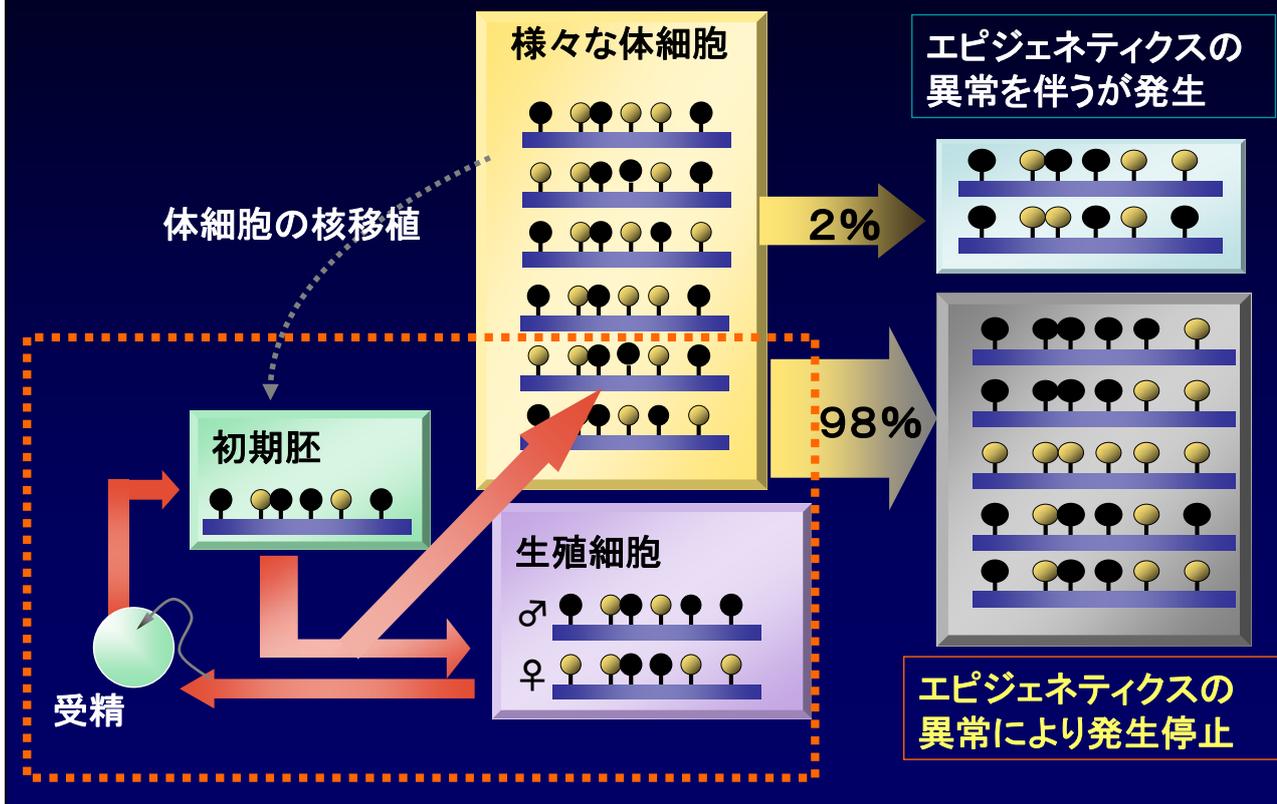
(Tanaka et al. 2001)

クローンウシのメチル化異常



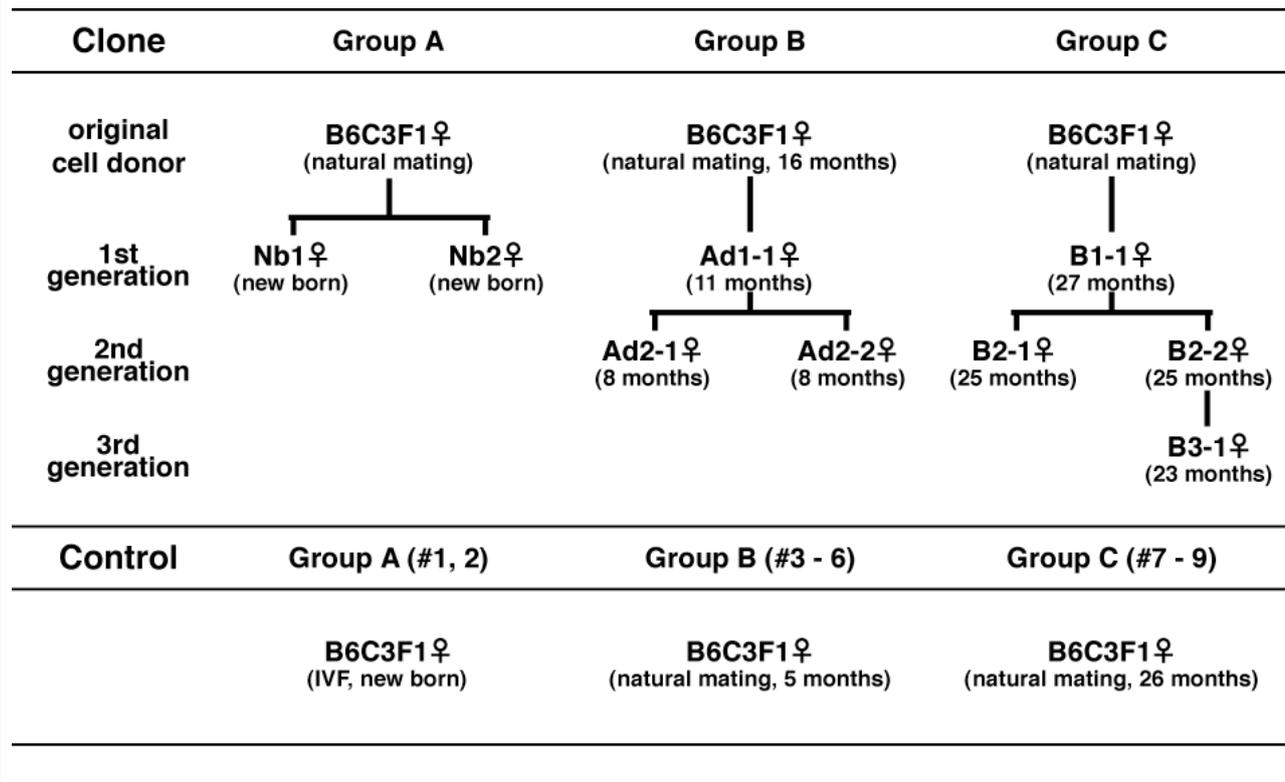
高橋博士(畜産草地研究所)今井博士(家畜改良センター)らと共同研究

動物発生のエピジェネティクス



クローンマウスのゲノムワイドDNAメチル化解析

クローンのクローンおよび加齢変化



クローンマウスのゲノムワイドDNAメチル化加齢変化

	Spot #1	Spot #2	Spot #3	Spot #4	Other ~2,000 spots
<u>Group A (New born)</u>					
対照	Control 1	+	-	+	+
	Control 2	+	-	+	+
クローン	Clone Nb1	-	+	+	+
	Clone Nb2	-	+	+	+
<u>Group B (8 - 11 month)</u>					
対照	Control 3	-	-	+	+
	Control 4	-	-	+	+
	Control 5	-	-	+	+
	Control 6	-	-	+	+
クローン	Clone Ad1-1	-	-	+	+
	Clone Ad2-1	-	-	+	+
	Clone Ad2-2	-	-	+	+
<u>Group C (23 - 27 month)</u>					
対照	Control 7	-	-	+	+
	Control 8	-	-	+	+
	Control 9	-	-	+	+
クローン	Clone B1-1	-	-	+	+
	Clone B2-1	-	-	+	+
	Clone B2-2	-	-	+	+
	Clone B3-1	-	-	+	+

+: Spot detected

-: Spot not detected

クローンマウスのゲノムワイドDNAメチル化解析

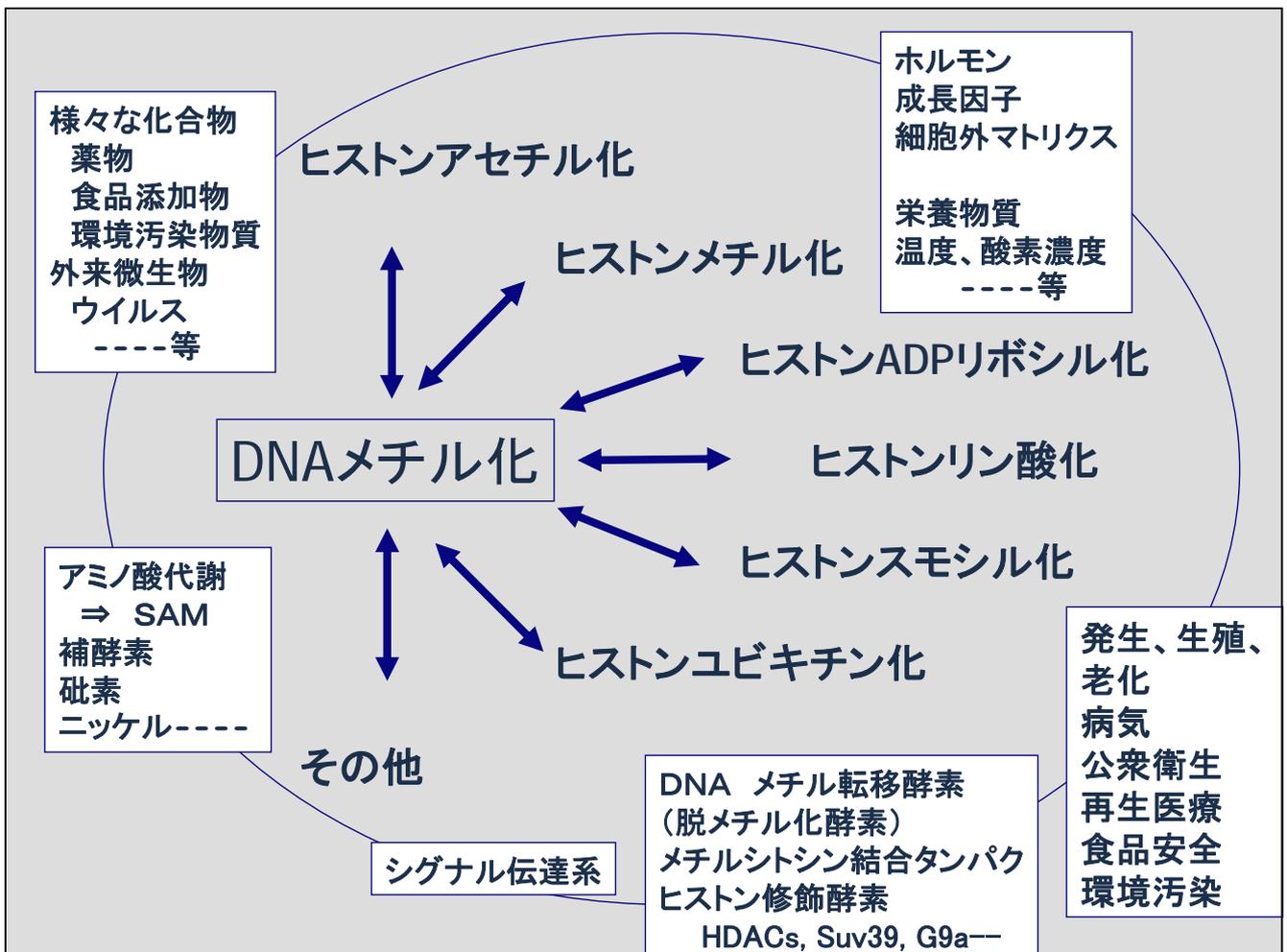
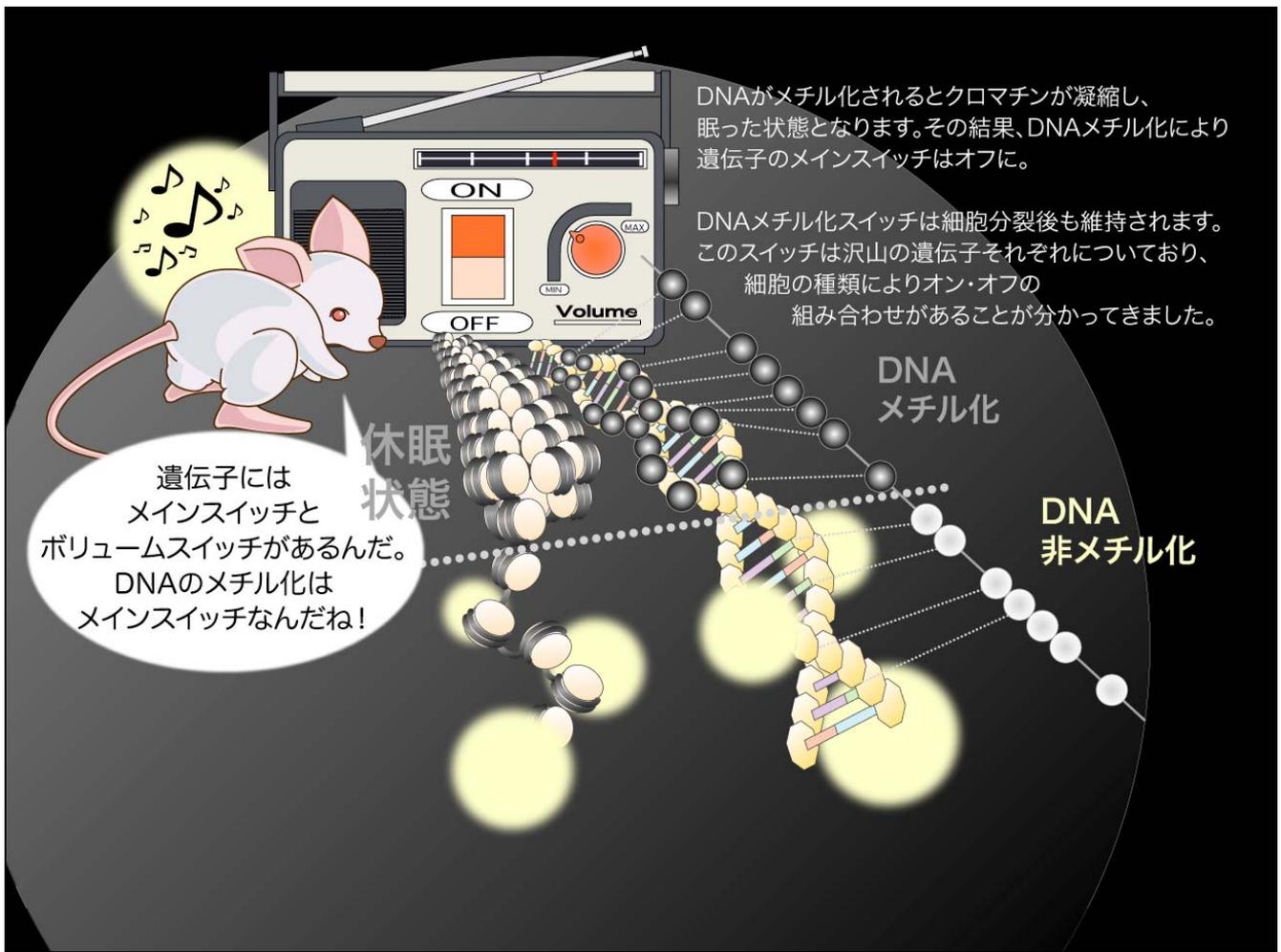
Table 3. Numbers of aberrant spots in cloned mice detected by RLGS.

	Unmethylated	Methylated	Total
B6D2F1 (Ohgane et al. 2001)			
Placenta (newborn) ^a	0	3	3
Skin (newborn) ^a	1	1	2
B6C3F1 (Present study)			
Kidney (newborn) ^a	1	2	3
(5 - 11 months old) ^b	0	1	1
(23 - 27 months old) ^c	0	0	0

a: n = 2, b: n = 3, c: n = 4

1. エピジェネティクスとは
2. 生殖と個体の発生
3. クローン動物の
エピジェネティクス

4. まとめ



まとめ

- エピジェネティクスは発生の基本メカニズムで、その異常は適切な細胞・組織・器官の形成を妨げとなる。
- クローン発生の成功率が低い理由として、エピジェネティクス異常が考えられる。クローン技術は、胚・胎児・母体にとって危険を伴う。
- 通常交配による動物でもエピジェネティクス異常が検出される。
- 加齢に伴いエピジェネティクス状況は変化する。クローンでのエピジェネティクス異常は、加齢とともに検出できなくなる。