

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

京極 博久

神戸大学大学院農学研究科／理化学研究所生命機能科学センター
助教／客員研究員

顕微操作技術による初期胚の不安定なゲノムの分配システムの解明

§ 1. 研究成果の概要

哺乳類では、初期の胚発生過程において、ゲノムを維持するための染色体が不均等に分配される頻度が、ほかの分裂に比べ非常に高いことが知られているが、正確な異常頻度を示した報告は無かった。本研究では、顕微操作と scRepli-seq を用いた方法、ライブセルイメージング、免疫染色に加え、in vivo 胚を用いた scRepli-seq 解析により異常頻度を調べ、初期胚における染色体分配異常の頻度のカタログを完成させた。その結果、染色体分配異常の頻度は第三卵割(4 細胞期から 8 細胞期)で非常に高く、その結果、約 50% の 8 細胞期胚がモザイク胚を形成していること、異常のほとんどが構造異常であることを発見した。次に、構造異常を引き起こす原因として複製時に異常が起こった可能性が示唆されたため、mitotic DNA repair synthesis に着目し、染色体の未複製領域の可視化システムを構築した。その結果、4 細胞期胚は、mitotic DNA repair synthesis が活発に働いており、分裂期に入っても多くの染色体複製異常をもっていることが明らかとなった。そこで、初期胚特有の DNA 複製プロファイルに着目して EdU 染色による複製パターンの解析および EdU 染色を行った割球を scRepli-seq に供する方法を用いて、染色パターンと複製度合を調べた。その結果、4 細胞期胚は体細胞とは異なる非常に特殊な染色体パターンを示した。一度、4~6 時間あたりで S 期が終了したときと同様にシグナルが非常に弱くなったり消えたりするが、その後、ドット状の強いシグナルが観察されるようになる。この、ドット状のシグナルが観察される時間が非常に長く M 期に入る直前まで観察された。また、シグナルは観察されるが、複製は 90%以上が完了していることが、scRepli-seq の結果から明らかとなった。すなわち複製に問題をかかえた特定の小さな領域が存在する可能性を示唆している。