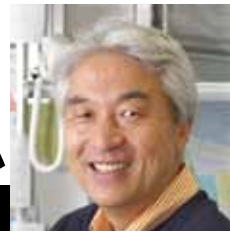


動物変異動態解析技術開発チーム

Technology and Development Team for Mammalian Cellular Dynamics



チームリーダー 阿部 訓也 (理博)
Kuniya ABE, Ph.D.

ミッションと事業概要

我々のチームは、バイオリソースセンターに収集された生物遺伝資源がどのような生物学的特徴、遺伝的性質を有しているかについて、系統個々の特性を解析するための新しい技術、実験ツールやリソースの開発を行ない、これによりバイオリソースの高度化、利用の促進を図ることを目標としている。

このため、我が国で開発されたマウス系統から新規リソースを開発することに加え、機能ゲノム解析技術、遺伝子発現解析技術、表現型可視化技術の開発を行っている。これらの技術を用いて、哺乳類の初期発生・生殖細胞形成プロセス、その過程でおきるゲノム再プログラム化に焦点を置いた研究開発も行っている。

Aim of our team is to develop technologies and experimental tools/ resources for characterization of 'genotype, phenotype and epigenotype' of biological resources. Through these efforts, we would extend utilities of bioresources collected at RIKEN BRC and facilitate research in the fields of life science.

Toward this goal, our team takes various approaches including genetics, functional genomics, and bioimaging. Using these technologies, we focus on processes of development and epigenetic reprogramming of pluripotent embryonic cells and germ cells in mice.

平成24年度の成果

Development of Technology in 2012-2013

古典的変異マウスの解析から多能性細胞の分化制御に重要な遺伝子を発見

哺乳類の胚には、将来、さまざまな細胞や組織に分化し、体全体を形成する能力（多能性）を持つ細胞が存在し、万能細胞と呼ばれるES細胞は、この多能性細胞から樹立される。多能性細胞は胚が子宮へ着床した後、原始外胚葉という細胞に分化するが、その過程では、ゲノムのエピジェネティック状態、遺伝子発現の大規模な変動が起きると考えられている。しかし、この分化過程を制御機構の詳細については、未だ解明されていないことが殆どである。

我々は、半世紀以上も前に報告された変異体で、この分化過程に異常を示す突然変異マウス「 t^{w5} 」に着目した（図1に表現型を示す）。この t^{w5} 変異系統は大規模な染色体異常を有しており、通常の遺伝学的手法ではその解析は困難であった。我々は、ゲノム解析、BAC（細菌人工染色体）トランスジェニック技術や条件付遺伝子改変の技術を組み合わせ、 t^{w5} 変異の原因遺伝子として「Vps52」を同定することに成功した。

Vps52は、酵母では、細胞内の物質輸送に働く遺伝子として知られていたが、哺乳類発生過程での機能は全く不明であった。今回、Vps52は臓側内胚葉という初期胚を包む細胞層に発現し、細胞間相互作用を介して臓側内胚葉の内側に存在する多能性細胞の分化や増殖を制御するという、哺

乳類特有の働きを持つことを明らかにした。また、Vps52を持たないES細胞は、分化誘導後も未分化状態で停止するが、Vps52の導入により分化が促進されることから、実際にES細胞のような多能性幹細胞の分化制御にも重要な役割を持つことも明らかとなった（図2）。

これらの知見は、今後、ES細胞やiPS細胞（人工多能性幹細胞）の分化制御技術の開発、未解明な部分が多い多細胞生物における細胞内外の情報伝達メカニズム解明などに貢献すると期待できる。

Identification of gene that promotes differentiation of pluripotential cells through the analysis of classical mouse mutant

During an early phase of mammalian development, developmental pluripotency is maintained by a particular cell lineage. After implantation, pluripotential cells are converted to primitive ectoderm through cell-cell interactions. This developmental transition is associated with significant changes in transcriptional and epigenetic networks. However, it is largely unknown which factors or genes are important for the postimplantation changes. Mutants displaying specific defects in the relevant processes provide an unbiased entry point for analyses. The t^{w5} mutation, occurring in the “ t haplotype” shows highly specific defects in the primitive ectoderm of pregastrulating embryos (Figure 1). The t haplotype is a

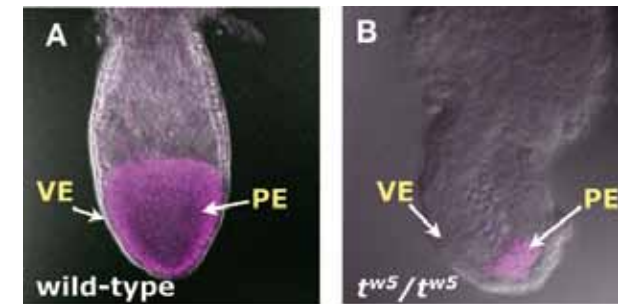


Fig. 1 Immunofluorescent images in $t^{w5}/+$ (A) and t^{w5}/t^{w5} embryos (B) indicate well-developed visceral endoderm (VE) and a severe defect in OCT3/4-positive primitive ectoderm (primitive ectoderm; magenta) in the mutant.

naturally occurring variant form of the mouse chromosome 17 that harbors large inversions that cause crossover suppression between t haplotype and wild-type (WT) chromosomes. As t haplotypes do not recombine with WT chromosomes, abundant genetic reagents and resources developed for analysis of WT chromosome cannot be applied. As a result, the recessive t^{w5} lethal mutation has not been identified molecularly to date, although the first report on the t^{w5} mutation was published in 1957. The researchers combined modern genome analysis technologies with BAC (bacterial artificial chromosome) transgenic rescue experiments to identify a candidate gene, *Vps52*, and confirmed its authenticity.

Vps52 is the mouse homolog of yeast *VPS52* gene thought to be involved in the retrograde trafficking. The data strongly suggest that in mammals *Vps52* acts in extraembryonic tissues to support the growth and differentiation of primitive ectoderm, and is also required for embryonic vasculogenesis at a later stage of development.

Defects of t^{w5} null embryos are reconstituted in the embryoid body differentiation system of ES cells (Figure 2). Upon induction of differentiation, t^{w5}/t^{w5} ES cells aggregate but cease the development, arrested in a “naïve” pluripotent state. Introduction of the *Vps52* transgene rescued the differentiation defect in the t^{w5}/t^{w5} ES cells, leading to formation of well-developed embryoid bodies (Figure 2). The developmental transition from a naïve to a primed state of pluripotent stem cells (or vice versa) is currently under intense investigation in the field of stem cell biology. It should be possible to facilitate this conversion process through the manipulation of *Vps52* activity.

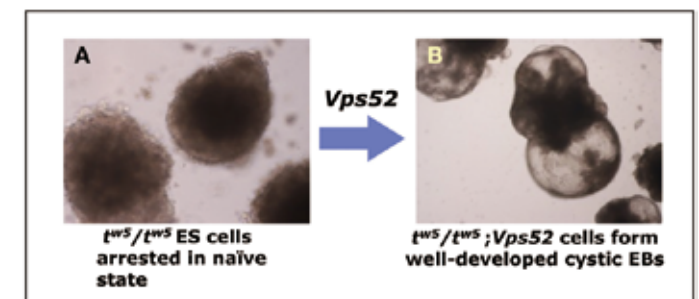


Fig. 2 t^{w5}/t^{w5} ESCs can barely differentiate into cystic embryoid bodies (EBs) (A), whereas introduction of the *Vps52* gene ($t^{w5}/t^{w5}; Vps52$) leads to efficient differentiation of cystic EBs (B).

職員とメンバー構成

Members

- チームリーダー [Team Leader]
阿部 訓也 Kuniya ABE, Ph.D.
- 開発研究員 [Research & Development Scientist]
杉本 道彦 Michihiko SUGIMOTO, Ph.D.
沼田 興治 Koji NUMATA, Ph.D.
- 基礎科学特別研究員 [Special Postdoctoral Researcher]
志浦 寛相 Hirotsuke SHIURA, Ph.D.
- テクニカルスタッフ II [Technical Staff II]
近藤 昌代 Masayo KONDO
池田 理恵子 Rieko IKEDA
古賀 裕美子 Yumiko KOGA
- アシスタント [Assistant]
草山 美和子 Miwako KUSAYAMA
- 研究支援パートタイマー [Part-timer 1]
曹 麗琴 Liqin CAO, Ph.D.
- 研究生 [Research Fellow]
三瀬 名丹 Natan MISE, Ph.D.
- 研修生 [Student Trainee]
川瀬 勇一郎 Yuichiro KAWASE
- 国際プログラムアソシエイト [International Program Associate]
Jo Lynn KHOO

