

## 二国間交流事業 共同研究報告書

平成23年3月30日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 宇都宮大学・農学部

職・氏名 (ふりがな) 准教授・松本 浩道  
まつもと ひろみち

1. 事業名 相手国(アメリカ合衆国)との共同研究 振興会対応機関 ( NSF )

2. 研究課題名 遺伝子多型選抜および生殖細胞機能賦活化の併用による優良形質家畜生産技術の構築

3. 全採用期間

平成 21 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 ( 2 年 0 ヶ月 )

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 5,000 千円

初年度経費 2,500 千円、 2年度経費 2,500 千円、 3年度経費            千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 1,000 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 (ふりがな)	所属・職名	研究協力テーマ
まつもと ひろみち 松本 浩道	宇都宮大学・農学部・准教授	胚の発生と着床能力獲得の分子機構解析
よしざわ みどり 吉澤 緑	宇都宮大学・農学部・教授	成熟卵の受精と発生能力の解析
ふくい えみこ 福井 えみ子	宇都宮大学・農学部・准教授	生産性に関わる遺伝子多型解析
アジャリ ラヒーム Ajalli Rahim	宇都宮大学・農学部・博士研究員	着床関連因子の分子生物学的解析
えぞえ けんじ 江副 賢二	宇都宮大学大学院・農学研究科	体外培養系における受胎率改善
きのの ちあき 佐野 千晶	宇都宮大学大学院・農学研究科	遺伝子組換え法による胚盤胞操作
こばやし みつる 小林 充	宇都宮大学大学院・農学研究科	着床関連因子の分子間相互作用解析

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 シンシナティ小児病院医療センター・教授・Sudhansu K Dey

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○Dey SK	シンシナティ小児病院医療センター・Professor (アメリカ合衆国)	マウス胚の着床に関する分子機構解析
Das SK	シンシナティ小児病院医療センター・Associate professor (アメリカ合衆国)	着床における子宮の分化と妊娠の維持機構解析
Daikoku T	シンシナティ小児病院医療センター・Assistant professor (アメリカ合衆国)	細胞をもちいた着床関連因子の分子機構解析

## 6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

### 目的

本研究では、遺伝子多型選抜と生殖細胞機能賦活化を併用して、高い受胎率、かつ生産性と抗病性の高い家畜増産技術の構築を目指した。そのために、以下の3つの段階を設定した。すなわち、①遺伝子多型解析により生産性と抗病性に関わる遺伝子を探索し、卵子と精子を選別、②それらを受精させ、目的とする優良形質を有する胚の作出、③この過程に必須である体外成熟培養や体外受精といった従来の生殖工学技術に加え、生殖細胞機能を賦活化する技術の開発、の3項目である。これらの研究成果から受胎率の向上を図るシステム構築の基盤となる研究を展開する方針で行なった。

### 内容

本研究では、乳ガン抑制因子である **Breast cancer 1 (BRCA1)** を中心に研究を展開した。すなわち、**BRCA1** の遺伝子多型解析を行なうとともに、胚における発現解析と生殖細胞機能賦活化法開発を行なった。さらに着床期胚における **Brcal** の分子機構を明らかにするためにノックアウトマウスをもちいた研究を展開した。

### 成果

#### 生産性に関わる遺伝子の解析

ヒト **BRCA1** は、家族性乳ガンに関与していることが知られている。そこで我々は、**BRCA1** がウシの乳房性疾患に関与している、と仮説をたてた。ウシ **BRCA1** 遺伝子については、肉用牛であるヘレフォード種のクローニングが報告されているのみである。ヘレフォード種では、エクソン 11 において 111 塩基の挿入の有無が、**BRCA1** 遺伝子の転写を制御するリン酸化に関わっていることが報告されている。乳房性疾患は乳用牛の生産において重要な問題であることから、代表的な乳用牛であるホルスタイン種における **BRCA1** 遺伝子の塩基配列解析を行った。その結果、ホルスタイン種 **BRCA1** 遺伝子のエクソン 11 は、ヘレフォード種と同一の配列であった。一方で、111bp 挿入は認められなかった。これらの結果から、ウシにおける **BRCA1** 遺伝子の塩基配列は保存性が高い一方で、乳用牛特異的な配列をもつ可能性が示唆された。

#### 発生と着床能力獲得に関する分子機構

マウスにおける **Brcal** の発現解析を中心に行った。**Brcal** タンパク質は、胚盤胞において子宮内膜に着床する部位である栄養外胚葉に発現していた。この発現は、着床を誘起された胚で上昇していた。一方で、体外受精で得られた胚における **Brcal** タンパク質は栄養外胚葉に発現しており、局在性は体内で発生した胚盤胞と差が認められないものの、低い発現レベルを示した。このことから、体外受精胚の低い着床率に、**Brcal** タンパク質の発現動態が関与している可能性が示唆された。また、4-ヒドロキシエストラジオールとプロラクチンによって **Brcal** の発現を賦活化することが可能であった。

**Brcal** は、細胞周期チェックポイント、DNA 修復、ユビキチン化によるタンパク質分解など多岐にわたって機能する。**Brcal** ノックアウトマウスを用いた解析の結果、胚盤胞における **Brcal** の役割は、ユビキチン化に関するものではなく、細胞周期チェックポイントや DNA 修復などに機能することで、着床前後における胚発生を支持している可能性が示唆された。

新規の着床関連因子の同定を行った。着床能力獲得胚において発現する遺伝子の網羅的解析の結果、着床関連因子の候補として **Tubulointerstitial nephritis antigen-like 1 (Tinagl1)** を見いだした。そこで、着床期胚発生における **Tinagl1** について解析を行った。**Tinagl1** タンパク質は栄養外胚葉特異的に発現しており、着床後胚では胚体外組織のみに局在していた。とくに胎盤が形成される前に胎子と子宮の間の隔壁であるライフェルト膜の構成する新規成分であることを明らかにした。