

博士論文

マウス 1 細胞期胚における遺伝子発現制御機構の解明

平成 27 年 12 月博士（生命科学）申請
東京大学 大学院新領域創成科学研究科
先端生命科学専攻

山本 龍馬

目次

要旨	1
緒言	4
第一章 「1 細胞期に転写される遺伝子の特定」	9
緒言	10
結果	12
考察	18
図表	22
第二章 「1 細胞期胚における遺伝子発現の特徴解析」	47
緒言	48
結果	50
考察	54
図表	56
第三章 「1 細胞期胚における転写制御機構の解析」	61
緒言	62
結果	65
考察	67
図表	70
総括	73
謝辞	77
材料と方法	78
参考文献	88

要旨

新たな生命が誕生する過程において、生殖細胞として最終分化を遂げた卵母細胞と精子は受精を経て分化全能性を有した 1 細胞期胚になる。マウスにおいては、1 細胞期中期に生命最初の転写が行われる。近年、RNA ポリメラーゼ II の可逆的阻害剤である 5,6-dichloro-1-β-D-ribofuranosyl-benzimidazole (DRB) 処理を行い 1 細胞期胚の転写を阻害したとき、多くの胚が 2 細胞期胚で発生が停止することが示された。したがって、生命最初の転写活性化である 1 細胞期胚の転写は、発生の進行に重要な役割を果たすことが明らかとなった。しかしながら、1 細胞期胚に転写される遺伝子はほとんど特定されておらず、遺伝子発現の特徴およびその制御機構はほとんど解明されていない。この原因として、受精前に多量に蓄積された卵母細胞由来の母性 mRNA が受精後も存在しており、これが 1 細胞期に合成された mRNA をマスクしてしまうことが挙げられる。母性 mRNA は、活発な転写活性を示す成長期卵において 10 日以上かけて合成される一方で、1 細胞期胚由来の mRNA は、受精後わずか数時間の間に合成されたものである。したがって、両者を比較したとき母性 mRNA の方が圧倒的にその量が多いと考えられる。そのため、これまでに行われたマイクロアレイによるトランスクリプトーム解析では、受精前後における発現量の差を検出することができず、1 細胞期胚で転写される遺伝子を特定することが困難であった。そこで、本研究では次世代シーケンス (RNA-seq) より得られたトランスクリプトームデータを基に、1 細胞期に転写される遺伝子を網羅的に特定した。そして、作成した 1 細胞期胚における遺伝子発現プロファイルを基に、1 細胞期の遺伝子発現の特徴およびその制御機構の解明を試みた。

第一章では、まず初めに受精前後の RNA-seq データをもとに、受精前には転写されておらず 1 細胞期胚から転写され始める遺伝子を特定した。そして、これらの

遺伝子は、1 細胞期胚で合成される転写産物にイントロンを含んでいることが明らかとなった。さらに、この傾向は1 細胞期胚に合成される多くの転写産物に見られ、1 細胞期胚ではスプライシング機構が働いていないことが予想された。そこで、pre-mRNA を卵、1 細胞期胚そして 2 細胞期胚の核にマイクロインジェクションを行ったところ、1 細胞期胚でのみほとんどスプライシングされず、スプライシング機構が十分に働いていないことが実証された。以上より、イントロンの発現量に注目することで母性 mRNA と 1 細胞期胚由来の転写産物を区別することが可能となった。そこで、受精前と比較して 1 細胞期胚でイントロンの発現が上昇している遺伝子を選択した結果、4575 遺伝子を得ることができた。

第二章では、第一章で得られた遺伝子を用いて 1 細胞期胚の遺伝子発現の特徴を明らかにすることを試みた。着床前初期胚において、一つの胚に含まれる総 mRNA 量は発生時期によって大きく変化するため、RNA-seq により算出された発現量の相対値を解析に用いるのは適切ではないと考えられた。そこで、それぞれの細胞種で発現量の高い上位 2000 個の遺伝子という共通項を作成し、このリストの類似性を比較することで遺伝子発現パターンの比較を行った。階層的クラスタリングの結果、1 細胞期胚は独立したクラスターを形成し、ユニークな遺伝子発現パターンを形成することが明らかになった。その原因として、様々な発生時期の初期胚あるいは組織細胞で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子が 1 細胞期胚ではその一部しか発現していないこと、他の時期の胚あるいは組織細胞では高発現していない遺伝子が 1 細胞期胚では数多く高発現していることの二点が考えられた。また、1 細胞期胚では他の細胞種と比較して遺伝子間の発現量の差が小さいことが分かった。

第三章では、ユニークな遺伝子発現パターンを形成する 1 細胞期胚において独特の転写制御機構が存在するかを明らかにするために、プロモーターエレメントの特徴解析、k-mer 解析による細胞種特有の転写制御エレメントの探索、そして各 CpG プロモーターの分布の解析を行った。これらの解析の結果、1 細胞期胚でのみ見られる特徴

を見つけることができなかった。しかしながら、1細胞期胚ではエンハンサーに依存しない転写機構が働くことが知られており、さらに本章の結果である1細胞期特異的なエレメントがプロモーターに存在しないことを合わせて考察すると、1細胞期では特定の遺伝子を強く活性化させる機構が存在していないことが考えられる。この仮説は、第二章で示された、1細胞期胚では遺伝子間の発現量の差が小さいという結果と矛盾しない。そして、このような転写調節のもとで、第二章で示したような他の細胞種で共通して高発現する遺伝子が1細胞期では高発現していない状況が生じ、その結果、1細胞期胚の遺伝子発現パターンがユニークなものとなっていることが考えられる。

以上より、1細胞期胚は非常に緩いクロマチン構造をとっているという既知の知見と、今回明らかになった遺伝子間の発現量に大きな差が無いという結果より、1細胞期胚ではゲノム全体で低レベルの転写が起こっているものと考えられる。このことから、遺伝子発現の劇的な変化が生じる着床前初期胚発生に備え、1細胞期胚では、各々の遺伝子が必要な時期にスムーズに活性化できるような土台を形成していると考えられる。このとき、合成された転写産物は必ずしも1細胞期胚に有用なタンパク質をコードするものばかりではなく、有害なものをコードするものも存在する可能性が高く、これらが機能しないように、1細胞期胚ではスプライシング機構が働かないという防御機構が働いていることが考えられる。

緒言

新たな生命は、精子と卵が受精をすることで誕生する。配偶子である卵を形成する過程で、卵母細胞は成長期卵、成長卵そして受精前の成熟卵（MII 期卵）へと変化する。マウスにおいて、成長期卵では活発な転写や翻訳が起こり、mRNA やタンパク質を大量に蓄積しながら体積を増大させて成長する。そして、成長を終えて成長卵になると転写活性は一時停止状態に入り、受精後の 1 細胞期中期までこの状態を維持する (Aoki et al, 1997; Moore et al, 1974)。そして、成長期に蓄積された mRNA やタンパク質は、母性因子として転写が停止した後の卵母細胞の成熟過程及び受精後の初期胚発生の維持に必要とされる (Schultz, 1993; Stern et al, 1972)。

成熟卵である MII 期卵は、精子と受精することで新たな生命の始まりの姿である 1 細胞期胚となる。MII 期卵および精子は最終分化を遂げた細胞であり、異なる細胞へ分化することはない。しかしながら、これらの細胞が受精することで誕生する 1 細胞期胚は、細胞分裂を繰り返すことで様々な種類の細胞をつくり出し、最終的に複雑な生物個体をつくり出す所謂全能性を持つ細胞である。したがって、遺伝子発現パターンは分化型から全能性をもつ初期胚型へと受精前後で大規模に変化し、次世代個体の発生プログラムが開始される (Hamatani et al, 2004; Kageyama et al, 2007)。

受精後における胚性ゲノムの活性化 (Zygotic Gene Activation; ZGA) についてはマウスを用いて古くから研究されてきた。まず、受精前後で新しく合成されるタンパク質を [³⁵S]methionine で標識して電気泳動で解析したところ、1 細胞期では受精前の卵とまったく変わらない泳動パターンが観察されたが、2 細胞期になるとそれまでになかった新たなタンパク質のバンドが見られるようになった (Flach et al, 1982)。この結果より、受精後最初の胚性遺伝子発現は 2 細胞期に起こると考えられていた。しかしな

がら、後に強力な恒常的プロモーターである β アクチンプロモーターを上流に持つルシフェラーゼを導入したトランスジェニックマウスの精子と MII 期卵を受精させたとき、1 細胞期後期にルシフェラーゼ活性が見られた (Matsumoto et al, 1994)。さらに、新規転写産物における BrUTP の取り込みが 1 細胞期中期に検出されたことから、マウスにおける生命最初の転写活性化は 1 細胞期に起こることが明らかとなった (Aoki et al, 1997; Bouniol et al, 1995)。また、取り込まれた BrU を定量することで、転写活性は 1 細胞期から 2 細胞期にかけて大きく増加していくことが明らかとなった。したがって、ZGA は転写活性が弱い 1 細胞期胚と、転写活性が大きく上昇する 2 細胞期胚の 2 段階で起こり、それぞれ minor ZGA、major ZGA と呼ばれるようになった (Aoki., 1997; Minami et al., 2007) (図 1)。また、他の動物についても似た様なパターンで ZGA が起こることが報告されている。ヒト、ウシにおいて、minor ZGA はどちらも 1 細胞期胚に起こり (Ao et al, 1994; Badr et al, 2007)、major ZGA はそれぞれ 4 細胞期胚~8 細胞期胚、8 細胞期胚~16 細胞期胚に起こる (Badr et al, 2007; Braude et al, 1988)。さらに、このような傾向は哺乳類以外の生物種にも見られる。ショウジョウバエ、アフリカツメガエルそしてゼブラフィッシュにおいて、胚由来の転写活性が高まる時期である Mid-Blastula Transition (MBT) よりも前の発生ステージで胚由来の低いレベルでの転写が見られる (Mathavan et al, 2005; Memili & First, 2000; Newport & Kirschner, 1982; Skirkanich et al, 2011)。したがって、このような 2 段階で起こる生命最初の転写活性は、生物間で広く保存されているものと考えられる。

受精後しばらくの間、発生の進行は母性 mRNA により制御され、その後胚由来の転写産物による調節へと切り替わることが知られている。マウスでは、RNA polymerase II の不可逆的阻害剤である α -アamaniチン存在下で 1 細胞期胚を受精後 48 時間培養したとき 2 細胞期で胚発生が停止した (Warner & Versteegh, 1974)。このことから、受精直後では 1 細胞期の minor ZGA で合成される転写産物は発生の進行に寄与しておらず、受精前より蓄えられていた母性 mRNA が翻訳され機能することで発生

が進行すると考えられた。そして、その後の 2 細胞期になって初めて major ZGA で合成される胚性遺伝子由来の転写産物が発生に関与するようになると長く信じられてきた (Aoki, 1997)。しかしながら、これらの実験は α -amanitin を用いて minor ZGA および major ZGA を同時に阻害しているため、発生の停止が minor ZGA の阻害によるものか、major ZGA の阻害によるものか判断することは困難である。最近の研究において、RNA ポリメラーゼ II の可逆的阻害剤である 5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosyl-benzimidazole (DRB) (Sehgal et al, 1976) 処理を行いマウスの minor ZGA のみを一過的に阻害したとき、多くの胚が 2 細胞期胚で発生が停止し、major ZGA のみを阻害したときよりもむしろ発生への影響が大きいことが示された (Abe 2013)。したがって、生命最初の転写活性化である minor ZGA は、発生の進行に重要な役割を果たすことが明らかとなった。

上述したようにマウスでは 1 細胞期に転写活性化が起こることが知られているが、実際にどのような遺伝子が転写されているのかについては、これまでほとんど明らかにされていない。1 細胞期に転写される遺伝子の特定が困難となっている理由として、1 細胞期に合成される転写産物と受精前に転写され 1 細胞期にまで持ち越された母性 mRNA との存在量の差が挙げられる。母性 mRNA は、成長期卵において 10 日以上かけて大量に蓄積される (Li et al, 2010) 一方で、1 細胞期の転写産物は転写活性の低い時期にわずかに数時間のみ合成されたものがある (Aoki et al, 1997)。したがって、1 細胞期胚で合成されたわずかな転写産物は、そのほとんどが受精後まで持ち越された母性 mRNA によってマスクされてしまい、未受精卵と 1 細胞期胚を比較することで 1 細胞期の転写産物を検出することは極めて困難となる。実際に、マイクロアレイを用いた受精前後におけるトランスクリプトーム解析では、受精前後のシグナルの差を検出することができず、1 細胞期に転写される遺伝子の特定には至っていない。

そこで、本研究ではマイクロアレイより精度が高い次世代シーケンス (RNA-seq) により得られた受精前後におけるトランスクリプトームデータをもとに、1

細胞期に転写される遺伝子を網羅的に特定することを試みた。そして、得られた遺伝子セットおよびその制御領域における特徴解析を行うことで、未だ多くが解明されていない1細胞期胚の遺伝子発現についての知見を得ることを試みた。

図1

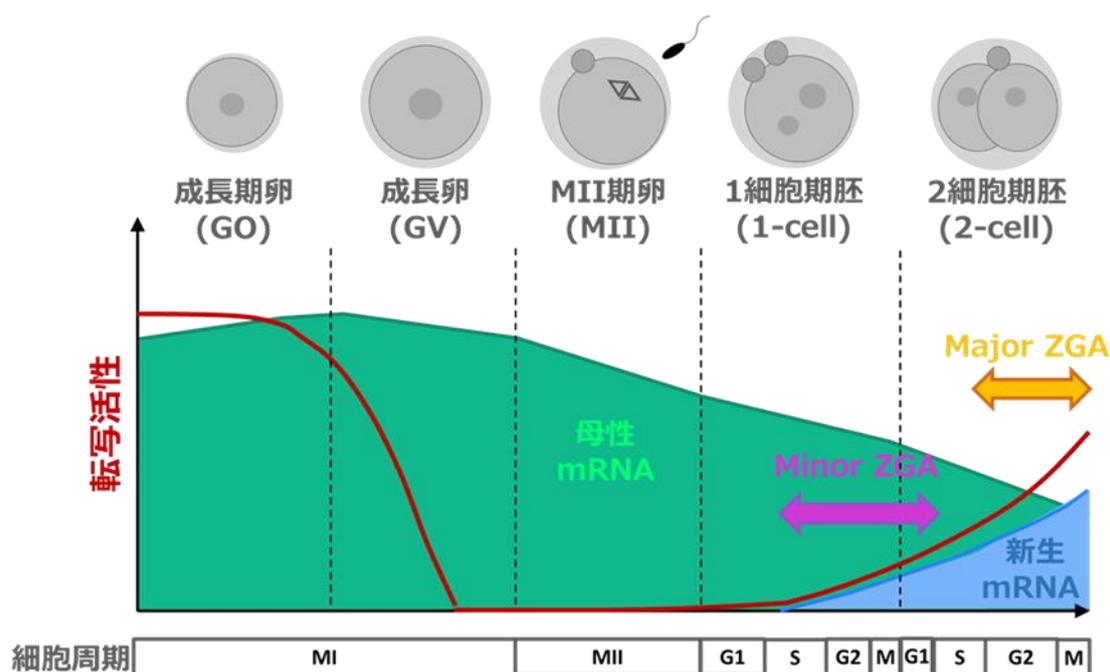


図1. 受精前後における転写活性および転写産物の変化

受精前の成長期卵では活発な転写が起こり、後の卵成熟および受精後の胚発生を維持するために大量の母性mRNAが蓄積される。成長期卵は成長を終えて成長卵になると、転写活性は一時停止状態を迎える。そして、卵成熟を終えMII期卵になると精子と受精し、新たな生命の始まりの姿である1細胞期胚になる。1細胞期中期に生命誕生後初めての転写が起こる。この時期の転写活性化は転写レベルが低いことから、minor zygotic gene activation (ZGA)と呼ばれている。そして、2細胞期中期以降に転写活性は大きく上昇し、この時の転写活性化はmajor ZGAと呼ばれる。

第一章

1 細胞期に転写される遺伝子の特定

緒言

マウスにおいて、生命誕生後の最初の転写は1細胞期中期にminor ZGAが起こることで始まる。しかし、1細胞期胚から2細胞期胚への進行は受精前に蓄えられた母性 mRNA が担っており、minor ZGA で合成される転写産物は寄与していないものと考えられていた。ところが近年、可逆的 RNA polymerase II の阻害剤である 5,6-Dichloro-1- β -D-ribofuranosyl-benzimidazole (DRB) で一過的に minor ZGA を阻害すると胚発生の進行が阻害されることが示されたため (Abe, 2013)、1細胞期胚の遺伝子発現は個体を形成するために必須な過程であることが明らかとなった。

これまでに、1細胞期胚で転写される遺伝子を網羅的に特定する試みが数多くなされてきたが、そのいずれにおいても十分な結果が得られていない。まず、マイクロアレイを用いてマウスの1細胞期胚で転写される遺伝子を網羅的に特定するという試みが複数なされているが、そのいずれにおいても限られた数の遺伝子が特定されたのみであった。Hamatani らは、未受精卵および着床前初期胚を用いたマイクロアレイを行い、それぞれの遺伝子発現を比較した (Hamatani et al, 2004)。しかしながら、未受精卵と比較して1細胞期胚で発現が上昇する遺伝子は、わずか 113 個しか検出されなかった。また、Wang らも、卵および着床前初期胚を用いてマイクロアレイを行ったが、MII 期卵と比較して1細胞期胚で発現が上昇する遺伝子はわずか 64 個のみであった (Wang et al, 2004)。さらに、Zeng らは、1細胞期胚において α -amanitin 処理を行って転写を抑制し、マイクロアレイを用いて α -amanitin に感受性のある遺伝子の特定を試みたが、このような遺伝子は検出されなかった (Zeng & Schultz, 2005)。マイクロアレイを用いて1細胞期に合成される転写産物を検出できない理由として、細胞質に大量に蓄積された母性 mRNA に対して1細胞期に転写される mRNA の量が非常に少ないことが挙げられる。マイクロアレイでは、サンプルから抽出した RNA 配列に相補的な

蛍光標識された RNA を合成し、これを基板上に準備した相補的な配列をもつ DNA プローブにハイブリダイゼーションすることで、蛍光シグナルの強さを検出し、数値化する。そして、個々の遺伝子の細胞間における蛍光シグナルの強さを比較することで発現の増減を解析する。しかしながら、1 細胞期胚の転写活性は弱く、さらに受精後に転写が開始してから 2 細胞期胚に分裂するまでにわずか数時間しかないことから、この時期に合成される転写産物量は少なく受精前後の発現量の差を検出することは困難であると考えられる。

近年、マイクロアレイに代わる新たな網羅的解析法として、次世代シーケンス解析が広く用いられるようになってきた。次世代シーケンス解析は、次世代シーケンサー (RNA-seq) で読まれた DNA 配列を生物のリファレンス配列にアライメントするマッピングを行い、マッピング頻度を基に個々の遺伝子の発現量を算出するため、マイクロアレイよりもより精度の高い解析が可能であると考えられる。実際に、RNA-seq とマイクロアレイを比較したとき、RNA-seqの方が検出可能な遺伝子数が多く高精度な解析ができることが報告されている (Park et al, 2013; Tang et al, 2009)。さらに、マイクロアレイは、予め用意した既知の遺伝子配列プローブに対してのみ解析することが可能であるが、次世代シーケンス解析はゲノム配列へマッピングを試みるため、エキソンのみだけでなくイントロン、さらには遺伝子間領域までゲノム全体を解析対象にすることができる。

そこで第一章では、マイクロアレイより高精度な解析が可能な次世代シーケンスにより得られた受精前後のトランスクリプトームデータを用いた大規模な遺伝子発現解析を行った。そして、1細胞期胚でのみ見られる特徴を掴み、これを糸口に1細胞期に転写される遺伝子を網羅的に特定することを試みた。

結果

RNA-seq における実験精度の検討

1 細胞期胚で転写される遺伝子の特定を行うに当たり、当研究室が所有する M II 期卵及び 1 細胞期胚におけるトランスクリプトームデータの精度を確認した。同一の RNA サンプルについてそれぞれ 2 回の RNA-seq を行い、その結果を比較したところ、M II 期卵のデータでは $R^2=0.9891$ 、1 細胞期では $R^2=0.9873$ と非常に高い相関が得られた (図 I-1A、B)。さらに、それぞれ独立した 2 つの RNA サンプルについて RNA-seq を行い、その結果を比較したところ、M II 期では $R^2=0.9773$ 、1 細胞期では $R^2=0.9742$ と非常に高い相関が得られた (図 I-1C、D)。これらの結果から RNA-seq により得られたトランスクリプトームデータにおいて、個々の遺伝子は RNA-seq 間、実験間両方で非常に誤差が小さく同程度の発現量を示していることが示され、サンプル調整を含めて RNA-seq の精度の高さが確認された。

1 細胞期胚に転写される遺伝子の特定

トランスクリプトームデータを基に、1 細胞期に転写される遺伝子を探索することを試みた。この時、1 細胞期に転写される遺伝子が次の 2 種類に大別できる点に留意した。1 つは、受精前にはほとんど転写されず 1 細胞期胚で転写される遺伝子 (図 I-2A) であり、もう一方は、受精前にも母性 mRNA として転写され 1 細胞期胚でさらに転写される遺伝子 (図 I-2B) である。後者に属する遺伝子は、受精前に大量に蓄積された母性 mRNA の持ち込みにより、1 細胞期胚に合成された転写産物のみを識別して検出することは困難である。そこで、まず前者に属する遺伝子の特定を試みた。候補遺伝子の選定条件として「MII 期卵では RPKM 値が 0.05 以下であり、1 細胞期胚では RPKM 値が 1.5 以上を満たす遺伝子 (即ち、MII 期卵と比較して 1 細胞期胚で RPKM

値が 30 倍以上増加している遺伝子)」を設定した。そして、この条件を満たす遺伝子を 23 個得ることができた (図 I-3A)。また、DRB 処理により 1 細胞期胚の転写を阻害した場合、これら 23 遺伝子の RPKM 値は著しく減少していることが確認された (表 I-1)。さらに、これらの遺伝子が実際に 1 細胞期胚で転写されているかを確認するために RT-PCR を行った。その結果、23 遺伝子すべてにおいて、MII 期卵と比較して 1 細胞期胚で発現の増加を確認することができた (図 I-3B)。以上から、RNA-seq より得られたトランスクリプトームデータを基に、1 細胞期胚で転写される遺伝子を 23 個特定することができた。

1 細胞期における転写産物のスプライシングについて

RNA-seq で読まれたリードのゲノム上へのマッピング状況を Genome Studio (Illumina, Inc.) を用いて調べたところ、特定した 23 遺伝子はすべてエキソン領域のみならずイントロン領域も同レベルでマッピングされていた (図 I-4A)。通常、mRNA 前駆体 (pre-mRNA) は転写と同時に起こるスプライシングによりイントロンが抜け落ちた構造をとっている (Bauren & Wieslander, 1994; Beyer & Osheim, 1988; Neugebauer & Roth, 1997)。そして、スプライシングを受けて合成された mRNA は、ほとんどエキソン領域にのみマッピングされる (図 I-4B)。しかしながら、今回特定した 23 遺伝子はイントロン領域も一様にマッピングされていたことから、1 細胞期に合成される転写産物はスプライシングを受けていないことが示唆された。このような傾向は、各遺伝子のイントロンの RPKM 値とエキソンの RPKM 値との比率からも確認することができた (表 I-2)。卵母細胞特異的遺伝子の転写産物は成熟した mRNA として存在しており、これが 1 細胞期胚にも持ち越されているが、そのエキソンの比率と比較してイントロンの比率は顕著に低い (図 I-4B)。一方で、特定した 23 遺伝子は、卵母細胞特異的遺伝子と比較してイントロンの比率は著しく大きかった。

そこで、1 細胞期に合成される転写産物がイントロンを含んでいるかどうかを

実験的に確認するために、特定した 23 遺伝子のうちの 3 遺伝子について、次の 2 種類のプライマーセットを用いて PCR を行った (図 I-5A)。一つ目は、一つのエキソン内にプライマーペアを設計した「Primer A」であり、各時期における遺伝子の総発現量を比較することに用いた。二つ目は、forward primer をエキソン領域内に、reverse primer を隣接するイントロン領域内に設計した「Primer B」であり、イントロンを含んでいる転写産物を検出するために用いた。PCR の結果 (図 I-5B)、3 遺伝子すべてにおいて Primer A を用いたとき、MII 期卵ではほとんどバンドが検出されず 1 細胞期胚で明瞭なバンドが見られ、2 細胞期胚において 1 細胞期胚と同等もしくはそれ以上のバンドが見られた。一方で、Primer B を用いたとき、MII 期卵でほとんどバンドは検出されなかったが、1 細胞期では明瞭なバンドとして検出された。また 2 細胞期でもバンドは見られたが、1 細胞期胚に比べて大きく減少していた。この結果は、これら 3 遺伝子すべてにおいて、1 細胞期胚においてイントロンを含む転写産物が多く存在するが、MII 期卵および 2 細胞期胚ではその割合は少ないことを示している。また、1 細胞期胚における転写活性は雄性前核の方が雌性前核より高いこと知られているため (Aoki et al, 1997; Henery et al, 1995)、転写活性の低い雌性前核でもスプライシングが正常に起こっていたとしても、それが検出されていない可能性がある。そこで、雌性ゲノムのみから構成される単為発生胚を作成し、特定した 23 遺伝子中 4 遺伝子に対して図 I-5A 同様のプライマーを設計し PCR を行った。その結果、1 細胞期胚と同様に単為発生胚でもイントロンを含む転写産物が検出された (図 I-6)。

さらに、1 細胞期の転写産物がスプライシングを受けないという現象は、23 遺伝子だけではなく 1 細胞期で発現する遺伝子全体の特徴なのかどうかを確認するために、1 細胞期胚における全遺伝子のイントロンの RPKM 値の分布を、遺伝子数の度数グラフで示した (図 I-7)。その結果、受精前の MII 期卵と比較して、1 細胞期胚ではイントロンの RPKM 値のピークは正方向へシフトしていることが確認された。そして、1 細胞期胚の代わりに DRB 処理により転写を阻害した 1 細胞期胚を用いたとき、イン

トロンの RPKM 値の分布は MII 期卵とほぼ類似した傾向を示した。このことから、1 細胞期胚で見られる正方向へのシフトは 1 細胞期に合成される転写産物によるものであることが確認された。以上より、1 細胞期胚で合成される転写産物の多くはスプライシングを受けていないことが明らかになった。

1 細胞期胚におけるスプライシング活性の解析

1 細胞期に合成される転写産物の多くはスプライシングを受けずイントロンを含んだままであることが確認されたことから、1 細胞期胚におけるスプライシング活性を調べことにした。スプライシング活性を確認するために、哺乳類細胞でスプライシングを受けることが知られているショウジョウバエ *ftz* 遺伝子の pre-mRNA の一部を 1 細胞期胚の雄性前核に顕微注入し、スプライシングを受けるかどうか調べた (Ishihama et al, 2008; Rio, 1988)。顕微注入に用いる *ftz* pre-mRNA はイントロンを挟む 2 つのエキソン、そして 40 nucleotides (nt) の poly A tail で構成されており (図 I-8A)、全長が 615 nt でそのうち 150 nt をイントロンが占めている。もしスプライシングを受けているならば、イントロンが抜け落ち全長が 465 nt の成熟した mRNA となる。顕微注入後、抽出した RNA について RT-PCR を行ったところ、コントロールとして用いた成長期卵、2 細胞期胚では 615 bp および 465 bp の位置に明瞭なバンドが確認された。一方、1 細胞期胚では 615 bp の位置に濃いバンドが確認され、465 bp の位置には非常に薄いバンドが見られただけであった (図 I-8B)。これらの結果から、1 細胞期胚ではスプライシング機構が十分に機能しておらず、1 細胞期に転写される遺伝子においてその転写産物はイントロンを多く含んでいることが強く示唆された。

このように、1 細胞期胚ではスプライシング活性がほとんど見られないことから、スプライシング機構が働く環境が十分に整っていないことが考えられる。これを確認するために、スプライシングに関わる細胞内機構の一つである核スペckルの存在の確認を試みた。核スペckルとは哺乳類細胞の核内において間期に見られ、多くのスプ

ライシング因子が蓄積したスプライシングに重要な点状の構造体であり、転写された pre-mRNA はこの核スペckルにおいてスプライシングを受ける (Lamond & Spector, 2003; Rinn & Guttman, 2014)。転写活性がある成長期卵、1 細胞期胚そして 2 細胞期胚について核スペckルマーカーであるスプライシング因子 SC-35 に対する抗体で免疫染色を行った結果、成長期卵及び 2 細胞期では核内に多数の点状のシグナルが確認できたのに対し、1 細胞期胚ではシグナルは確認できなかった (図 I-9)。したがって、1 細胞期胚ではスプライシング機構が働くための環境が整っておらず、スプライシング反応が起きていないことがより強く示唆された。

1 細胞期に転写される遺伝子の網羅的特定

上述の通り、1 細胞期に転写される遺伝子は、受精前にはほとんど転写されず 1 細胞期で転写される遺伝子 (図 I-2A)、 および受精前にも母性 mRNA として転写され 1 細胞期胚にさらに転写される遺伝子 (図 I-2B) に分類できる。その中で後者に属する遺伝子については、1 細胞期に合成される転写産物が、大量に持ち込まれた母性 mRNA によってマスクされてしまうことから検出することが困難であった。しかし、ここまでの結果で、1 細胞期胚での転写産物はイントロンを含んだままであることが明らかとなり、この特徴を用いることで、エキソンのみで構成される母性 mRNA から 1 細胞期に合成されるイントロンを含む転写産物を分けて検出することができるものと考えられた。即ち、前者に属する遺伝子だけではなく後者に属する遺伝子についても検出することが可能と考えられた。そこで、1 細胞期に転写される遺伝子を網羅的に特定するために、以下の条件を設定した (図 I-10)。まず、①RNA-seq により、1 細胞期胚でイントロン上に 10 リード以上マッピングされ、且つ②受精前の MII 期卵と比較して、1 細胞期胚でイントロンの RPKM 値が 3 倍以上増加していることである。①の条件は、獲得する遺伝子の信頼性を向上させるために設定した。例えば、MII 期卵でイントロン上に 1 リード存在し、1 細胞期胚で 3 リードに増加した場合でも、リード数は 3 倍増加

したことになる。しかし、エキソンと比較して比較的長い配列であるイントロンにマッピングされた 3 リードを発現量が増加したものとして判断すると誤り（第 1 種の過誤）を多く含む可能性が生じる。したがって、1 細胞期胚において最低でも 10 リード存在している遺伝子を発現しているものと見なした。そして、①及び②の条件を満たす遺伝子を 4597 個獲得することができた。次に、1 細胞期胚の代わりに DRB 処理を施した 1 細胞期胚についても同様の条件を設定したところ、それらを満たす遺伝子はわずか 51 個のみであった。この結果は、上記①、②の操作により実際には 1 細胞期で転写されていない遺伝子を誤って得てしまう割合が極めて低い（1%程度）ことを示している。したがって、この操作で得られた 4597 遺伝子はほとんどが 1 細胞期に転写される遺伝子であると考えられる。そこで、この 4597 遺伝子から、DRB 処理を施した 1 細胞期胚で得られた 51 遺伝子に含まれているものを除外して、1 細胞期に転写される遺伝子として 4575 遺伝子を得ることができた（表 I-3）。

考察

本章では、MII期卵および1細胞期胚におけるRNA-Seqにより得られたトランスクリプトームデータを用いることで、1細胞期に転写される遺伝子を網羅的に特定することを目的とした。そして、1細胞期に転写される遺伝子はイントロン領域も多くマッピングされていたことから、1細胞期に転写される遺伝子にはスプライシング機構が働いていないことが考えられた。この発見は、pre-mRNAの核内インジェクションにより実験的に証明された。そして、1細胞期においてこのような特徴を示す遺伝子は数多く存在していることが明らかになり、その結果、受精前と比較して1細胞期胚でイントロンのRPKM値が増加している遺伝子を選択することで、1細胞期に転写される遺伝子を4575個特定することができた。

本研究を行っている過程で、RNA-seqを用いて1細胞期で転写される遺伝子を特定したという報告が2つの研究室からなされた。まず、Xueら (Xue et al, 2013) は、マウス卵および着床前初期胚を用いたsingle cell RNA-seqにより、未受精卵と比較して1細胞期胚で発現が増加した遺伝子を520個獲得している。しかしながら、この解析ではサンプル調整の際にオリゴdTを用いたpoly-Aセレクションを行っていることが問題であると考えられる。受精前後ではpoly-A鎖の長さが増加する母性mRNAが多数存在することが知られている (Clegg & Piko, 1982; Temeles & Schultz, 1997; Worrad et al, 1994; Worrad & Schultz, 1997)。一方で、poly-A鎖の長さがオリゴdTによる回収率に影響することが報告されており (Moore et al, 1996)、受精直後に母性mRNAのpoly-A鎖が伸長することで、実際にはmRNA量が増加していないにもかかわらず1細胞期胚において遺伝子の発現が上昇したかのような誤った結論を導き出している可能性がある。また、Parkら (Park et al, 2013) は、ポリソーマルRNAを除いたRNAライブラリを用いてRNA-seqを行った結果、未受精卵と比較して1細胞期胚で発現が増加した遺伝

子を596個獲得している。しかしながら、これらの遺伝子は、未受精卵と比較して1細胞期胚での発現量が1.5倍以上となっていたものであり、偽陽性を含む可能性が大きい。実際に、Parkらの596遺伝子のうち、本研究で特定した4,575遺伝子に含まれるものはわずか83個であった。さらに、これら596遺伝子のうちで、イントロンのRPKM値が1細胞期胚でMII期卵の1.5倍以上であったものはわずか358個（60%）であり、さらに1細胞期胚とMII期卵でまったく変化していないものが96個（16%）も存在した。これらの報告に対して、本研究で獲得した遺伝子セットは、選択条件に「スプライシング効率が低い」という1細胞期胚の特徴を反映しており、イントロンに着目することで母性由来と1細胞期胚由来の転写産物を識別して獲得しているため、信頼性の高い集団であると考えられる。

本章で明らかとなった1細胞期胚の特徴として、スプライシング活性が弱いことが挙げられる。1細胞期胚においてスプライシング活性が弱い理由のひとつとして、1細胞期胚において核スペックルの重要な構成因子 *Malat1* の発現が低いことが考えられる核スペックルは、スプライシングが起こる際に重要となる構造体である (Rinn & Guttman, 2014; Tripathi et al, 2010)。細胞質に存在するスプライシング因子はSRプロテインキナーゼ (SRPK) によりリン酸化され核内へ移行し、*Malat1* と相互作用することで核スペックルを形成する。そして、核スペックルに蓄積されたスプライシング因子は Cdc2 様キナーゼ (CLK) によりさらにリン酸化されることで核スペックルから解離する。そして、解離したスプライシング因子は転写が活発な領域へリクルートされスプライシングに機能する (Naro & Sette, 2013)。しかしながら、RNA-seq データにおいて MII 期卵および1細胞期胚における *Malat1* の発現は低く、*Malat1* が不足することで核スペックルが形成されず、転写が活発な領域に機能性スプライシング因子がリクルートされず、スプライシング効率が低下した可能性がある。さらに、1細胞期胚においてスプライシング活性が弱いもう一つの理由として、CLKファミリーに属する CLK1 によるスプライシング因子の過剰なリン酸化が考えられる。哺乳類において、CLKフ

ファミリーには CLK1、CLK2、CLK3 そして CLK4 が存在し (Hanes et al, 1994; Nayler et al, 1997)、自身の N 末端がスプライシング因子である Serine/arginine-rich (SR) タンパク質の C 末端に存在する Arginine/serine-rich (RS) ドメインを認識し、リン酸化することでスプライシングへの機能を制御している (Aubol et al, 2014; Katsu et al, 2002)。CLK1 を過剰発現させたとき、SR タンパク質は高リン酸化状態になりスプライシング効率は CLK1 の濃度依存的に低下し、核スペckルが消失しイントロンを含んだ転写産物が合成されることが示された (Prasad et al, 1999; Sacco-Bubulya & Spector, 2002)。さらに、このような SR タンパク質の高リン酸化によるスプライシング効率の減少は、*Ascaris lumbricoides* における 1 細胞期胚においても確認されている (Sanford & Bruzik, 1999)。マウスにおいて、*Clk1* の発現は成長期卵から 1 細胞期胚にかけて上昇し、2 細胞期胚で大きくに低下することを RNA-seq データより確認している。したがって、1 細胞期胚では過剰な CLK1 によりスプライシング因子が高リン酸化状態にあり、核スペckルは消失しスプライシング効率が低下した可能性がある。

これまでに 1 細胞期では新しく合成された mRNA からは翻訳が起こっていないことが示唆されてきたが、本研究ではそれを裏付け、さらにその原因を明らかにすることができた。すなわち、受精前後でタンパク質の合成パターンを調べた過去の実験では、MII 期卵と 1 細胞期胚で合成パターンに違いがなかったことが報告された (Flach et al, 1982; Latham et al, 1991)。この結果は、1 細胞期胚で合成される転写産物はタンパク質へと翻訳されないことを示唆するものであったが、1 細胞期胚では転写活性が低いことから翻訳産物が検出限界量以下であった可能性も否定できなかった。また、1 細胞期胚で翻訳が起こらないと仮定しても、その原因についてはまったく明らかにされていない状況であった。しかしながら、本研究で 1 細胞期胚の転写産物はイントロンを含んでいることが明らかになり、これが原因で正しく蛋白質が翻訳されず、未受精卵と 1 細胞期胚でタンパク質合成に変化が見られなかったものと考えられる。

本章において、1細胞期に転写される遺伝子プロファイルを作成したことによ

り、この分野の研究における最も基礎となる土台を作り上げることができた。そして、これまで殆ど知見を得ることができなかった生命の誕生後最初に起こる遺伝子発現について解析の幅を大幅に広げることができたものと考えられる。

図 I -1

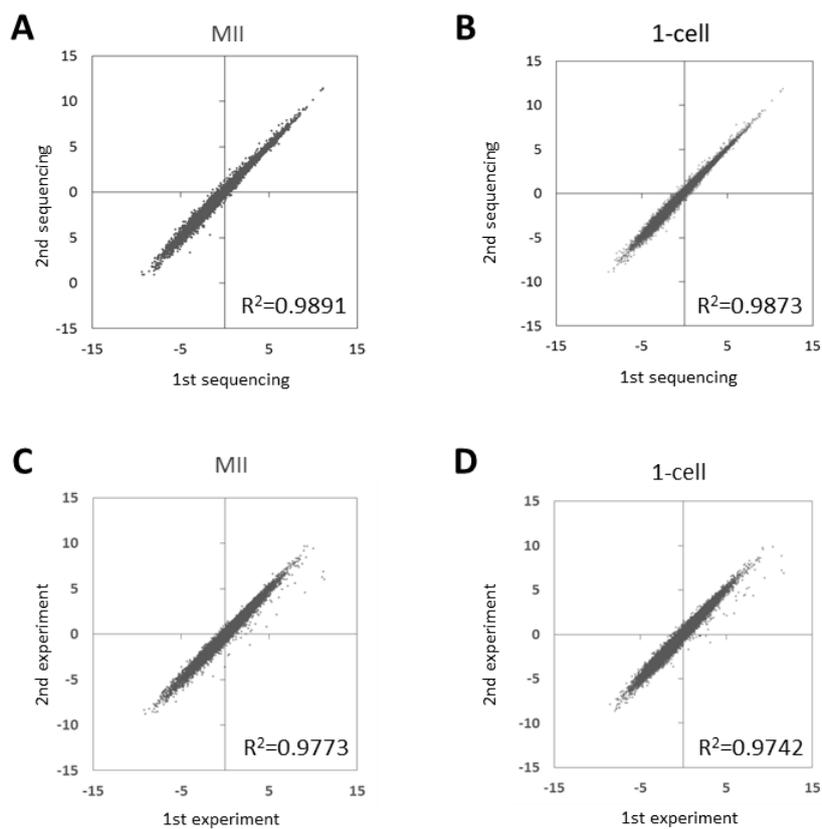


図 I -1. MII期卵および1細胞期胚におけるRNA-seqデータの精度解析

MI I期卵および1細胞期胚それぞれにおいて、A)、B) 同一サンプルを用いて独立した2回のRNA-seqを行い得られたトランスクリプトームデータおよびC)、D) 独立した2種類のサンプルを用いて2回のRNA-seqを行うことで得られたトランスクリプトームデータを用いて、個々の遺伝子のRPKM値を比較した。縦軸および横軸は、それぞれのシーケンスで得られたトランスクリプトームデータにおける個々の遺伝子のRPKM値について底を2とした対数をとった値を示している。R²は決定係数を示す。

図 I -2

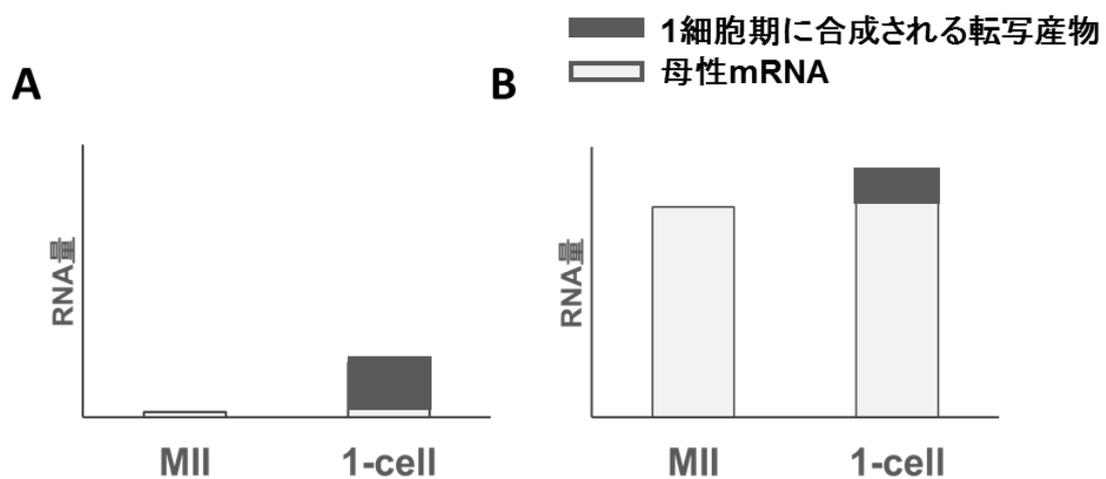


図 I -2. 1細胞期に転写される遺伝子の発現パターンの分類

1細胞期に転写される遺伝子は次の2種類に大別できる。一つは、A)受精前は殆ど転写されていない遺伝子、二つ目は、B)受精前の卵母細胞でも活発に転写されて母性mRNAとして蓄積されている遺伝子である。

図 I -3

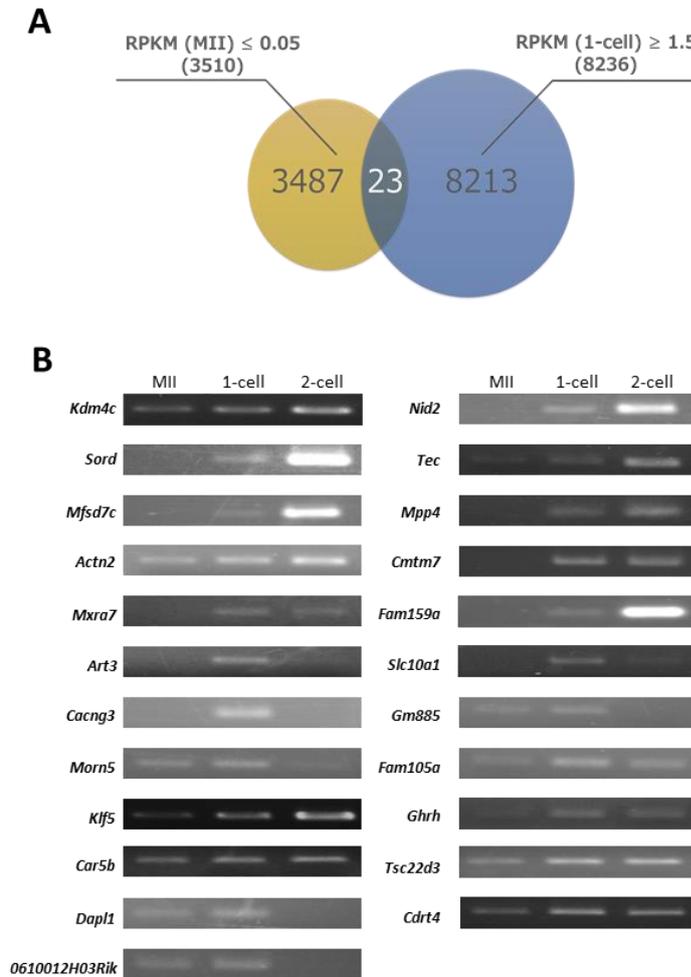


図 I -3. 1細胞期に転写されると予測された23遺伝子の発現解析

RNA-seqにより得られたトランスクリプトームデータをもとに、1細胞期胚で転写される遺伝子の特定を試みた。A) 選定条件を示す。MII期卵ではRPKM値が0.05以下であり、且つ1細胞期胚ではRPKM値が1.5以上の値を示す(即ち、MII期卵と比較して1細胞期胚でRPKM値が30倍以上増加すること)を条件とし、23個の候補遺伝子を得た。B) 23候補遺伝子の発現をRT-PCRを用いて解析した。解析には、MII期卵(MII)、受精後13時間の1細胞期胚(1-cell)そして受精後32時間の2細胞期胚(2-cell)を用い、各遺伝子ともに3回以上の独立した実験を行い、各回とも同様の結果を得た。代表的な図を示す。

図 I -4

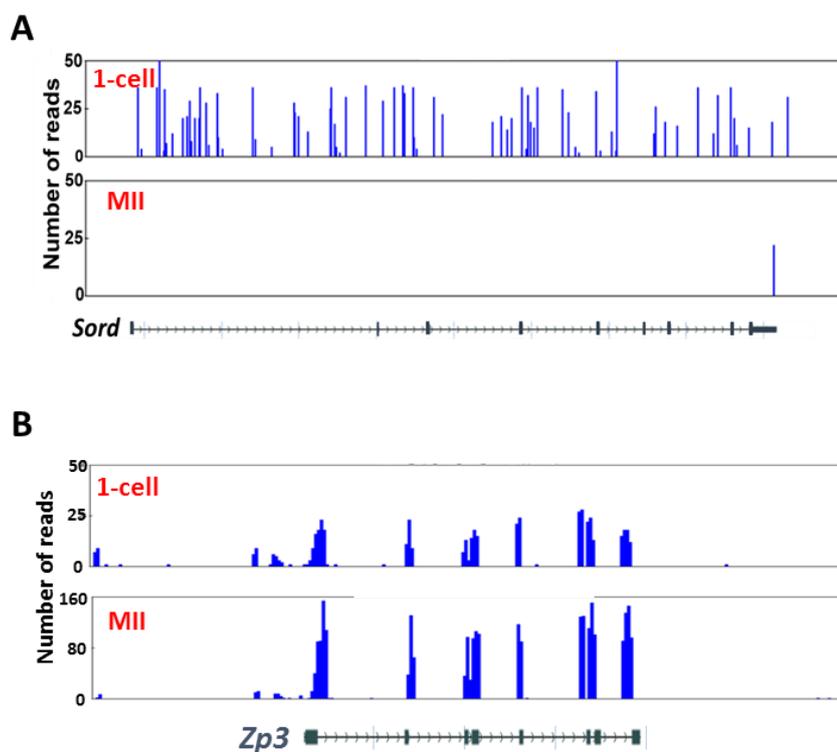


図 I -4. MII期卵および1細胞期胚におけるRNA-seq read のマッピング状況

A) 新たに特定した1細胞期胚 (1-cell) で転写される遺伝子 (*Sord*) および
B) 卵母細胞特異的遺伝子 (*Zp3*) の受精前後におけるRNA-seq read のマッピング状況。MII期卵 (MII) および1細胞期胚におけるRNA-seqデータを用いて、Genome Studioによって可視化した。23遺伝子全てにおいて、*Sord* 同様のマッピング状況が確認された。

図 I -5

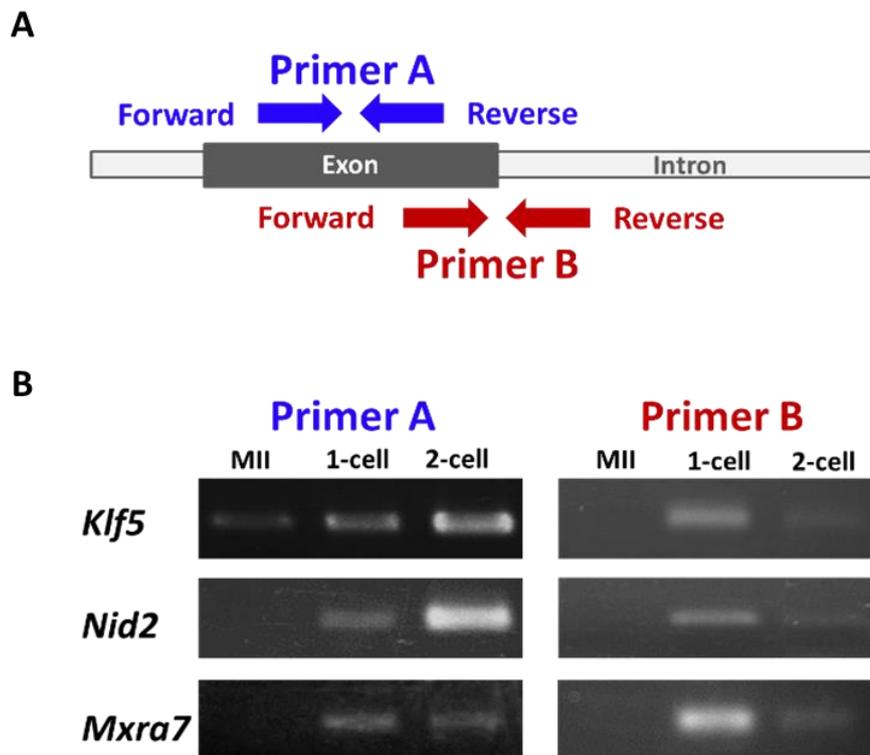


図 I -5. 受精前後におけるスプライシングの有無に関する検証

A) 実験に用いたプライマーペアの概略図。Primer AのセットはForwardおよびReverse共に1つのエクソン内に、Primer BのセットはForwardをエクソン領域内、Reverseを隣接するイントロン領域内にそれぞれ設計した。B) 各遺伝子について、MII期卵(MII)、1細胞期胚(1-cell)そして2細胞期胚(2-cell)を用いてPCRの増幅確認を行った。各サンプルとも3回の独立した実験を行い、各回とも同様の結果が得られた。

図 I -6

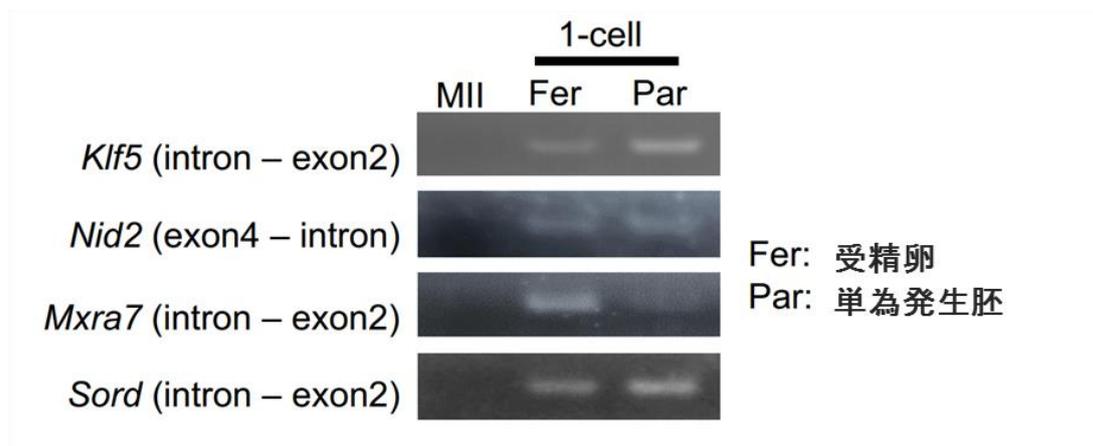


図 I -6. 単為発生胚におけるスプライシング機構の検証

受精後に転写される4遺伝子について、エキソンおよび隣接するイントロンにそれぞれ設計したプライマーペアを用いたPCRにより、MII期卵(MII)、1細胞期胚(1-cell: Fer)そして単為発生胚(1-cell: Par)における増幅確認を行った。3回の独立した実験を行い、各回とも同様の結果が得られた。

図 I -7

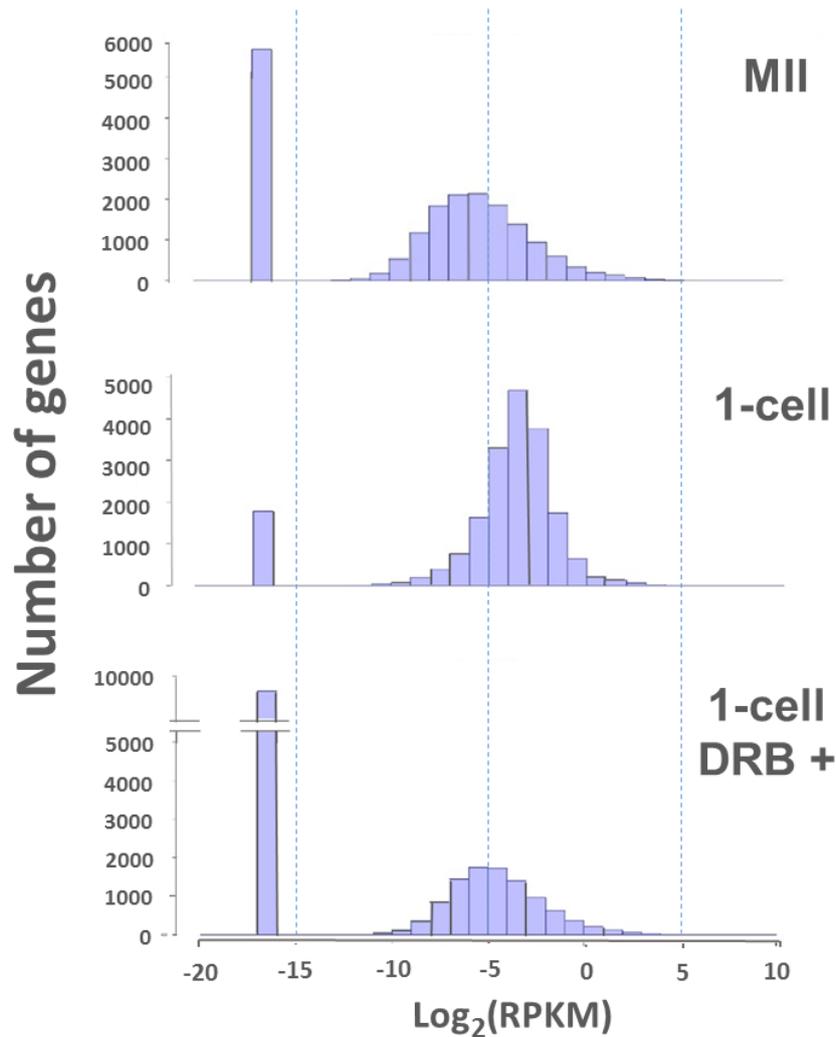
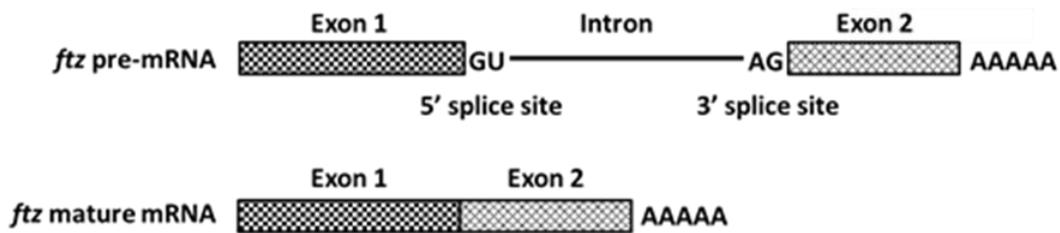


図 I -7. MII期卵および1細胞期胚における全遺伝子のイントロンのRPKM値の分布

MII期卵 (MII)、1細胞期胚 (1-cell) そして転写阻害剤である5,6-dichloro-1-β-D-ribofuranosyl-benzimidazole (DRB) で処理した1細胞期胚 (1-cell DRB+) における全遺伝子のイントロンのRPKM値の分布を遺伝子数の度数グラフで図示した。各々のグラフの横軸はイントロンのRPKM値に底を2とする対数をとった値を示しており、縦軸はそのような値をもつ遺伝子数を示している。また、横軸の値が-15未満のグループは、イントロンのRPKM値が0の遺伝子を示している。

図 I -8

A



B

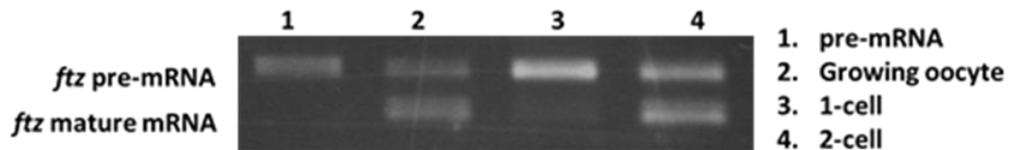


図 I -8. *ftz* pre-mRNAの核内マイクロインジェクションによるスプライシング活性の解析

A) マイクロインジェクションに用いた*ftz* pre-mRNA (615 nt) の構造。二つのエクソンおよびそれらに挟まれる一つのイントロンで構成されており、3'末端に40 ntのpoly A tailが付加されている。スプライシングを受けることでイントロンが除かれ、全長が465 ntのmRNAになる。B) 成長期卵 (Growing oocyte) の核および2細胞期胚 (2-cell) の片側の割球の核、そして1細胞期胚 (1-cell) の雄性前核へ*ftz* pre-mRNAのマイクロインジェクションを行った。そして、イントロンを挟む両側のエクソン内にForward、Reverseプライマーをそれぞれ設計したプライマーペアを用いたRT-PCRを行い、スプライシング活性を解析した。レーン1はインジェクションに使用した*ftz* pre-mRNAをコントロールとして示している。独立した3回の実験を行い、すべて同様の結果が得られた。

図 I -9

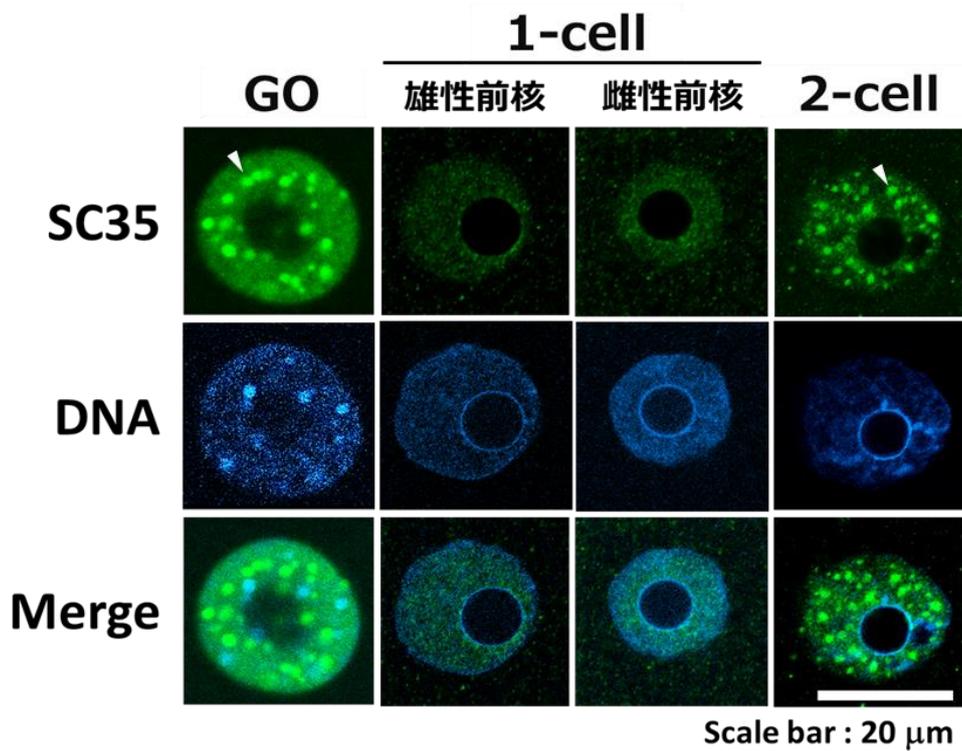


図 I -9. 受精前後における核スペckル形成の有無

成長期卵 (GO)、受精後13時間の1細胞期胚 (1-cell) そして受精後32時間の2細胞期胚 (2-cell) において抗SC35抗体を用いた免疫染色を行い、核スペckル形成の有無を確認した。図は、それぞれの細胞の核内の染色状態を示す。矢頭は核スペckルを示している。各実験において10個以上の成長期卵および着床前初期胚を染色し、独立した3回の実験で30個以上の成長期卵および着床前初期胚を使用し、全て同様の結果が得られた。

図 I -10

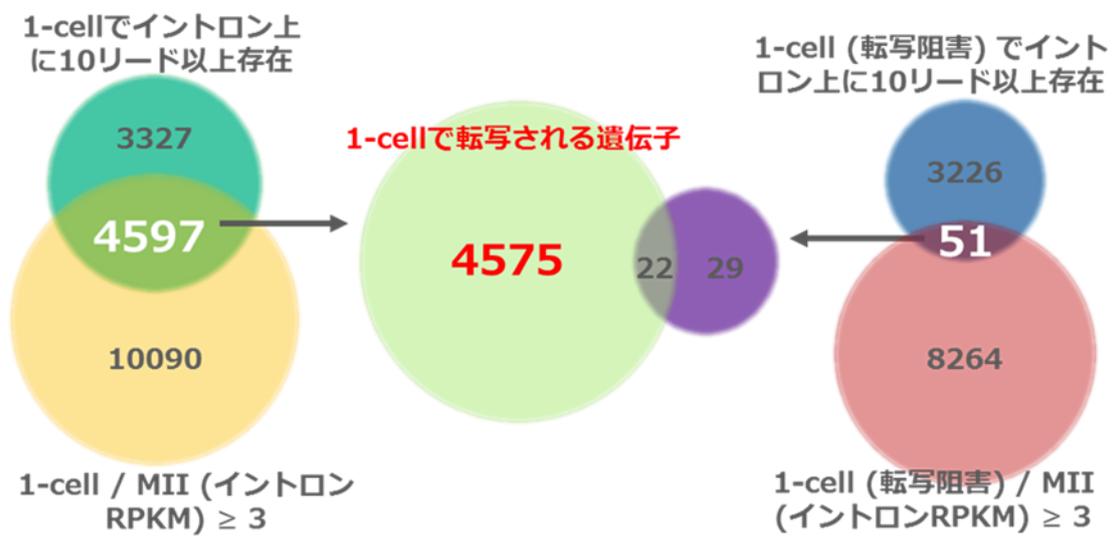


図 I -10. 1細胞期に転写される遺伝子の網羅的特定

1細胞期胚ではスプライシング機構が機能していないため、イントロンのRPKM値に着目した選定条件を設定した。1細胞期胚(1-cell)で10 reads以上存在し、且つイントロンのRPKM値がMII期卵(MII)と比較して1-cellで3倍以上増加した遺伝子(4597遺伝子)の中から、5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosyl-benzimidazole (DRB)で転写を阻害した1-cellでもイントロンのRPKM値がMIIより3倍以上増加していた22遺伝子を除き、最終的に1細胞期胚で転写される遺伝子を4575個獲得した。

表I-1. 1細胞期胚で転写される23遺伝子のRPKM値

Gene symbol	RPKM		
	MII	1-cell	DRB-treated 1-cell
<i>Kdm4c</i>	0.05	1.75	0.04
<i>Nid2</i>	0.03	2.23	0.26
<i>Sord</i>	0.03	2.16	0
<i>Tec</i>	0.03	2.57	0.16
<i>Mfsd7c</i>	0.02	1.64	0.06
<i>Mpp4</i>	0.03	1.56	0.06
<i>Actn2</i>	0.02	1.64	0.13
<i>Cmtm7</i>	0	1.6	0
<i>Mxra7</i>	0	1.56	0.37
<i>Fam159a</i>	0	1.7	0
<i>Slc10a1</i>	0	1.97	0
<i>Dapl1</i>	0	4.69	0.48
<i>Art3</i>	0	1.87	0
<i>Gm885</i>	0	2.11	0
<i>Cacng3</i>	0	2.04	0
<i>Fam105a</i>	0	1.62	0.25
<i>Mom5</i>	0	1.95	0
<i>Ghrh</i>	0	2.04	0
<i>Klf5</i>	0	1.95	0
<i>Tsc22d3</i>	0	2.04	0
<i>Car5b</i>	0	2.46	0
<i>Cdrt4</i>	0	1.63	0
<i>0610012H03Rik</i>	0.05	1.82	0

*DRB : 5,6-dichloro-1-β-D-ribofuranosyl-benzimidazole

表I-2. 1細胞期胚で転写される23遺伝子におけるイントロン
およびエキソンのRPKM値の比率

1細胞期胚で転写される23遺伝子			
symbol	RPKM		
	exon	intron	intron/exon
Gm885	0.393	0.381	0.969
Mpp4	1.101	0.180	0.163
Sord	0.153	0.447	2.920
Mxra7	0.200	0.196	0.978
Klf5	0.701	0.559	0.797
Car5b	0.100	0.145	1.445
Fam105a	0.348	0.169	0.486
Dapl1	0.903	0.201	0.222
Slc10a1	1.136	0.418	0.368
Actn2	0.347	0.147	0.422
Nid2	0.849	0.410	0.483
Kdm4c	0.206	0.083	0.400
Cacng3	0.340	0.029	0.085
Art3	0.221	0.098	0.443
Mfsd7c	0.302	0.122	0.405
Tec	0.130	0.116	0.893
Cdrt4	0.239	0.055	0.228
0610012H03Rik	0.114	0.044	0.383

卵母細胞特異的遺伝子			
symbol	RPKM		
	exon	intron	intron/exon
<i>zp3</i>	56.164	0.120	0.002
<i>h1foo</i>	361.781	0.785	0.002
<i>Gdf9</i>	366.818	0.307	0.001
<i>Plat</i>	120.198	0.421	0.004

表 I -3. 1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (1)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
1	Cks2	71	Mapk14	141	Rrp1b	211	Prpf19	281	Arl8b
2	Calm1	72	Pdia4	142	Ywhaq	212	Neurl4	282	Raver1
3	Ccnb1	73	Kpna2	143	2310028O11Rik	213	Nars	283	P4hb
4	Rad23a	74	9930104L06Rik	144	Kif18b	214	Pms2	284	Rbm39
5	Ddx39	75	Gnb3	145	Snrpg	215	Lrm4	285	Rnf19b
6	Srsf3	76	Dhx9	146	Pycr1	216	Fam82a2	286	Gtf2f1
7	Gtf2b	77	Arid5a	147	Etfb	217	Stk11	287	Txlna
8	D030056L22Rik	78	Mat2a	148	Mad2l1bp	218	Th1l	288	Cita
9	Npm1	79	Snmp48	149	Scsep1	219	Arhgap11a	289	Parp1
10	Calr	80	Smarcd2	150	Tie1	220	Rpl7l1	290	Lsm14a
11	Zfp217	81	Glul	151	Brf1	221	1110002B05Rik	291	Fus
12	Thop1	82	Grhl1	152	Tollip	222	Kin	292	Nxf1
13	Syf2	83	Tajp2	153	Tmem183a	223	Eif1a	293	Stard4
14	Cdc34	84	Arpc1b	154	Lgmn	224	Cdc6	294	Mdc1
15	Srsf7	85	Psmb2	155	Ctsl	225	Sf1	295	Ilf2
16	Rps19	86	Alkbh5	156	Cdkn1a	226	Map1lc3b	296	Fam118a
17	Ppp1cc	87	Ddit3	157	Sec61a2	227	Sftpb	297	Tmem188
18	Calm2	88	Puf60	158	Ube2d2	228	Lonp1	298	Mcm4
19	Sfi1	89	Slc25a28	159	Csrp2	229	Incenp	299	Rangap1
20	Rbm4	90	Zfp352	160	Ccdc134	230	Rbm25	300	Zc3h18
21	Cdk1	91	M6pr	161	Fam83d	231	Agfg2	301	Raly
22	Nup62	92	Slc10a1	162	Usp48	232	Atp5j2	302	Tdrd9
23	Tmbim6	93	Traf1	163	Pdap1	233	Poldip3	303	Sdf4
24	Morf4l2	94	Tuba1c	164	Smug1	234	Rabif	304	Vwce
25	Hmox1	95	Abcf2	165	Pttg1ip	235	Plekhm1	305	Ghitm
26	Pif1	96	Calm3	166	Dti	236	Brp44l	306	2410001C21Rik
27	Tceb1	97	2400003C14Rik	167	Usp36	237	Ddx20	307	Ncaph
28	Rbm38	98	Otud6b	168	Tspo	238	Fahd2a	308	Cd97
29	Snmp70	99	Kif23	169	Mfsd2a	239	Top2a	309	Mpzl1
30	Grb2	100	Slbp	170	Egln2	240	Phb	310	Lman2
31	Nek2	101	Fam40a	171	Rbbp7	241	Sae1	311	Vasn
32	Retsat	102	Atp5o	172	Eif2ak3	242	Slc15a4	312	Tpx2
33	Scamp3	103	Piga	173	Pgs1	243	Ccnt1	313	Kihl11
34	Myliip	104	Cenph	174	Chek2	244	Gem	314	Hsp90b1
35	Tcf7	105	Zw10	175	Ppp1r2	245	H2afv	315	Pdcd2l
36	0610007P14Rik	106	Ywhag	176	Slc25a10	246	Dnaja4	316	Otud3
37	Mtf2	107	Ctnnb1	177	Racgap1	247	Rybp	317	Poir3h
38	Paf1	108	Smg5	178	Susd3	248	Rps15a	318	Usp1l
39	Hnrnpk	109	Psmd5	179	Aurka	249	Taf15	319	Ctndf1
40	Mdh2	110	Slc10a6	180	Atp6ap2	250	Arfgap2	320	Thoc3
41	Troap	111	Cct5	181	Pgmc1	251	Fam117a	321	Gtse1
42	Hspa14	112	U2af1	182	Cct8	252	Exosc10	322	Gtf2f2
43	Tll12	113	2700050L05Rik	183	D230025D16Rik	253	Matr3	323	Exog
44	H3f3a	114	Akr1b3	184	Arg2	254	Arfgap1	324	Nid2
45	Icmt	115	1700019L03Rik	185	Prosc	255	Ypel1	325	Cops8
46	Cotl1	116	Supt5h	186	Mak16	256	Pip5k1a	326	Tmem8
47	Hdac1	117	Ccm4l	187	Amdhd2	257	Mns1	327	Secisbp2
48	Syvn1	118	Tra2b	188	Actl6a	258	Emg1	328	Dusp10
49	Chaffa	119	Ptbp1	189	Bnip3	259	Kif5	329	Spcs2
50	Mcm5	120	Sc5d	190	Mrps25	260	Mapk1	330	Por
51	Cdc45	121	Utp14b	191	Pa2g4	261	Gpn3	331	Wdr73
52	Rmnd5b	122	Slc39a13	192	Nptrn	262	Lbr	332	Mcm3
53	Qrich2	123	Paip2	193	Shc1	263	Pak1ip1	333	D17Wsu92e
54	Rrm2	124	Wpi2	194	Pthr2	264	Slco4a1	334	Arpc1a
55	Wdr5	125	Atp5b	195	Stip1	265	Safb	335	Azin1
56	Fam54a	126	Hnmp1	196	Ccs	266	Ptp4a2	336	Irf8
57	Kif11	127	Mrps22	197	Creb3l3	267	Usp39	337	Srrt
58	Ccna2	128	Topors	198	Snrpa	268	Ccni1	338	Pbk
59	Gotf	129	Stfgalnac2	199	Ccdc99	269	Epn1	339	Kdm5b
60	Cdk11b	130	Ythdf1	200	Dhdds	270	Dgcr14	340	Ppp2r5d
61	Abhd13	131	Hn1	201	Ubap2	271	Map2k1	341	Ptdss2
62	Tob2	132	G3bp1	202	Ash2l	272	Akap8	342	Gpbp111
63	Nolc1	133	Smndc1	203	Hmmr	273	Ptpn18	343	Als2
64	Slc7a5	134	Rrp9	204	Etf1	274	Laptn4a	344	Ubp1
65	Esco2	135	Snrpc	205	Spc25	275	Fam33a	345	F630043A04Rik
66	Pin1	136	Dgke	206	Lrpap1	276	BC031781	346	Rmnd5a
67	Eif4a3	137	Actn4	207	Bop1	277	Ankrd13a	347	Paip2b
68	Fam103a1	138	Slc30a2	208	11-Sep	278	Slc37a3	348	Slc7a6os
69	Arf3	139	Fam53a	209	Psm4	279	Yy1	349	Stil
70	Cenpa	140	Cenpf	210	Necap2	280	Usp5	350	Uhrf1bp1

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧(2)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
351	Mybl2	421	Gcsh	491	Leprel2	561	Masp2	631	Tbc1d24
352	Pfkfb2	422	Hdgfrp2	492	Nktr	562	Cdca8	632	Rimk1a
353	Tra2a	423	Ccdc75	493	Rbbp4	563	Dvl1	633	Rfc4
354	Sap30bp	424	Rpa1	494	Muc5b	564	Eed	634	Fam60a
355	Zfp212	425	Rlim	495	Sun2	565	Brca1	635	Prkci
356	Etv5	426	Sar1a	496	Pixnb3	566	Wrap53	636	Sic19a2
357	Usp10	427	Xrcc6	497	Blcap	567	Zfp219	637	Katnb1
358	Sec61b	428	Cyb5	498	Spty2d1	568	Triobp	638	Rab5b
359	Med21	429	Atg9a	499	Psen1	569	Cand1	639	Umm1
360	Utp14a	430	Rcc1	500	Ivd	570	Fam110a	640	Rbm6
361	Cdh1	431	Sic25a25	501	Nfe2l2	571	Ncbp1	641	Cdv3
362	Xrcc2	432	Dcp2	502	Asf1b	572	Alas1	642	Coro7
363	Copb2	433	Gabpa	503	Tsn	573	Rexo4	643	Pascin2
364	Tmem41b	434	1700021F05Rik	504	Nup133	574	Bahd1	644	Rnf4
365	Ube2w	435	Arglu1	505	Elmod3	575	Mia2	645	Ap2b1
366	Tecpr1	436	Ube2t	506	Prps1	576	Vps37b	646	Nub1
367	Cdc25c	437	6720463M24Rik	507	Hells	577	Snap23	647	Smpd4
368	Napa	438	Ddx18	508	Drg1	578	Hsph1	648	Grtp1
369	Sic2a8	439	Mpv17	509	Gba2	579	Tspan33	649	Aqr
370	Sic24a5	440	9630033F20Rik	510	Thoc7	580	Pmm2	650	BC019943
371	Gm885	441	Tbl2	511	Ulk1	581	5430411K18Rik	651	Dhx8
372	Rab4b	442	Sic16a3	512	Acly	582	4933424B01Rik	652	Fdft1
373	Sic26a2	443	Ankrd10	513	Lrrc68	583	Prdm4	653	Mef2b
374	F11r	444	Stc2	514	Itgba4	584	Pigs	654	Upf3b
375	Dck	445	Ier3ip1	515	Brd9	585	Arf4	655	Tmem192
376	Irf46	446	Wnt11	516	Stf2d1	586	Sec11c	656	Al661453
377	Sc4mol	447	Cdr2	517	1810020D17Rik	587	Casp2	657	Ube2g2
378	Cyb5b	448	Mrps11	518	Gipc1	588	Cabin1	658	Mau2
379	Clk1	449	Tas1r2	519	Cct3	589	Sesn2	659	Dennd4c
380	Gpatch3	450	Pam16	520	Maik	590	Traf7	660	Sic5a3
381	Derl1	451	Man1b1	521	Sdad1	591	Hic2	661	Rhof
382	Narf	452	Zfp867	522	Nop2	592	Stk40	662	Fbxw11
383	Bzw1	453	Heatr7b1	523	Tpd52l2	593	Abcg4	663	Psmd3
384	Dcaf7	454	Tmem72	524	Atp6v1c2	594	Ppp2r1a	664	Ppfia4
385	Ptges3	455	Riok3	525	Ireb2	595	Safb2	665	Abcf1
386	Sord	456	Sun1	526	Ruvbl1	596	Psma3	666	Shprh
387	Zmiz2	457	Isy1	527	Golga2	597	Ptpn11	667	Baat1
388	Cep57	458	Nfs1	528	Sugp1	598	Rsl1d1	668	Hdac11
389	Ifrd1	459	Akap8l	529	Nat10	599	Cyth3	669	Cds2
390	Adnp	460	Snmp40	530	Zfp952	600	Ncoa3	670	Gna11
391	Sic16a1	461	Sec31a	531	Rbm44	601	Lnp	671	Dhdh2
392	Cbx7	462	Luc7l3	532	Necab3	602	Cjptm1	672	7-Mar
393	Usp16	463	Zfp346	533	Surf6	603	Ctsb	673	Psat1
394	Zfp322a	464	Bicd2	534	Hsd17b7	604	Dcaf12	674	Sic25a42
395	Elavl3	465	Clk3	535	Pdcd11	605	Scrib	675	Mapk8ip1
396	Rsrc2	466	Fbl	536	Kank3	606	Ppp2r2d	676	Pdz d7
397	Mvk	467	Ranbp1	537	Frmf8	607	Mki67	677	Map2k2
398	Akap1	468	Rnpc3	538	Nsmce1	608	Sh3bgrl2	678	Dhcr7
399	Ccnj	469	Fem1c	539	Ppih	609	Fnbp4	679	Riok2
400	Rpa2	470	Rpa2	540	Shmt1	610	Mphosph8	680	Lpin1
401	Oat	471	Pask	541	Atox1	611	Ywhae	681	Samd4b
402	Stxbp2	472	Mosc2	542	Bola3	612	Nop58	682	Coil
403	Gtf3c4	473	Cables2	543	Ppp6r3	613	Stag3	683	Mxra7
404	Msh6	474	C030048B08Rik	544	Mdm2	614	Pwp1	684	Setd8
405	Ppil2	475	Atp5f1	545	Sugt1	615	Noi10	685	Scamp5
406	Cabp1	476	Ik	546	Lsm1	616	Kdm4b	686	Rab43
407	Inpp5b	477	Polr2b	547	Ctr9	617	Maml1	687	Osbp
408	Zfp566	478	Chka	548	Sic31a1	618	Sqle	688	Golga4
409	Fam133b	479	Baiap2	549	Fanca	619	Cir1	689	Orc1
410	Sirm1	480	2310001A20Rik	550	Sub1	620	Atp5c1	690	Zc3hc1
411	Tmem43	481	Uck2	551	Ube2j2	621	Dsty1	691	Surf4
412	Mapre1	482	Mkrn2	552	Ddx24	622	Mcm10	692	Arpc2
413	Aco2	483	Cstf1	553	Ube2b	623	Fpgs	693	Haus7
414	Sbds	484	Nptx2	554	Farsa	624	Pmm1	694	Pkd1
415	Wisip2	485	Zfp386	555	Txndc16	625	Il27ra	695	Af2
416	Scaf4	486	Nudt4	556	Trap1	626	Wtap	696	Pank3
417	Ddx52	487	Gdi2	557	Mphosph6	627	Gm2a	697	Asb11
418	Ccnf	488	Dhtkd1	558	Ckap2	628	Spint2	698	Pnm1
419	Npc2	489	Nop14	559	Cmklr1	629	Tcfcp2	699	Hmgxb3
420	Nsun2	490	Abhd5	560	Ttc1	630	Sbno2	700	Pdia3

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3. 1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (3)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
701	Senp2	771	Tbc1d20	841	0610040J01Rik	911	Ppfa1	981	Aff1
702	Ybx1	772	Ube2d3	842	Naa25	912	Afg3l2	982	Traf2
703	Faim	773	Pltp	843	Gcfc1	913	Glyr1	983	Eif2ak4
704	Arhgap29	774	Smarca4	844	Sbk1	914	Proca1	984	Klhl12
705	Kif2c	775	Prkaca	845	Pelp1	915	Gdap2	985	Srebf2
706	1810019J16Rik	776	BC027231	846	Ccdc117	916	Cherp	986	Oaz2-ps
707	Fubp1	777	Rictor	847	0610010012Rik	917	Nudt9	987	BC002230
708	Eif2s2	778	Lipg	848	Rbm10	918	Srpk1	988	Mreg
709	BC046404	779	Qrich1	849	Femt3	919	Nutf2	989	Ssu72
710	Setd1a	780	Rpp30	850	Tbc1d15	920	Stat3	990	Nufip2
711	Slc38a10	781	Ythdf2	851	Ddi2	921	Fam73b	991	Litaf
712	Crcp	782	Cc2d1b	852	Aktip	922	Dimt1	992	Papss1
713	Tox4	783	Ewsr1	853	Zfp94	923	Hopx	993	Psma2
714	2410127L17Rik	784	Zc3h15	854	Vdr61	924	Skp2	994	Vps35
715	BC017647	785	Ogfod1	855	Tfrc	925	Pyroxd1	995	Ftsjd2
716	Zfp42	786	Cnn3	856	Sufu	926	Fbxl18	996	Hspa12b
717	Alg12	787	Arl6ip5	857	Mcm6	927	Ppig	997	Stox1
718	Lrrc59	788	D10Wsu52e	858	Cltc	928	Crtf3	998	Ap3m2
719	Msh4	789	Osbpl2	859	Gsta4	929	Spttc1	999	Otud5
720	Top1	790	Rab7	860	Snrpa1	930	Mthfd1	1000	Tab2
721	Zcchc17	791	Pitrm1	861	Setdb2	931	Pi4kb	1001	Morc2a
722	Abhd2	792	Igsf9b	862	Setd3	932	Metml	1002	Ampd1
723	Aacs	793	Calcoo1	863	Myo10	933	Atrip	1003	Tchp
724	Slc35e3	794	2610019F03Rik	864	Fam102a	934	Nmd3	1004	Slc25a19
725	Polr2f	795	Wdr43	865	Trip11	935	Dcaf4	1005	Pcx
726	Tcfap2a	796	Polr2a	866	9430038I01Rik	936	Stx6	1006	Bag3
727	Scoc	797	Stt3b	867	Xpo4	937	Dmbx1	1007	Cep68
728	Eif5a2	798	Gtf3c1	868	Rcor1	938	Mre11a	1008	Nup93
729	Atp6v0e	799	Alad	869	Lonrf3	939	Tars	1009	Fam162a
730	Zfp653	800	Gcxc	870	1700037H04Rik	940	Lrwd1	1010	Qsox1
731	Ankrd17	801	Taldo1	871	Ssbp3	941	Xpnpep1	1011	Api5
732	Cops4	802	Zfp367	872	Trafd1	942	Ube4a	1012	Ppap2a
733	Rab5c	803	Aaas	873	Pikfyve	943	Traf3ip1	1013	Rwdd4a
734	Vti1b	804	Snw1	874	Coq10b	944	Lbp	1014	Pi4k2a
735	Tes	805	Ext1	875	Timm17a	945	Taok3	1015	Katna1
736	Padi3	806	Cgn	876	Ar15a	946	Dgkz	1016	Etv4
737	Polg2	807	Fbxo31	877	Rad21	947	Fgf18	1017	Map3k7
738	Dedd2	808	Rab40b	878	Ppm1d	948	Naa40	1018	Zbtb5
739	Unc5b	809	Hspa4	879	Prpf40a	949	Prr11	1019	Dpm1
740	Vapa	810	Gmfb	880	Sfrp1	950	Rps5kb1	1020	Zbtb7b
741	Dgcr2	811	Nfyc	881	1110031I02Rik	951	Mtr	1021	Ranbp10
742	Zfp961	812	Sf3b1	882	Dync1li1	952	Wdr45l	1022	BC055324
743	Gatm	813	2310061C15Rik	883	Ccdc21	953	Adipor1	1023	Bahcc1
744	Cdc42ep4	814	Kpnb1	884	Srx18	954	Mfn2	1024	Elavl1
745	Cxcr7	815	Kcnn4	885	Shf	955	Clic4	1025	Morf4l1
746	Crat	816	Tmf1	886	Kpna1	956	Slc43a2	1026	Gabpb2
747	Sycp3	817	Fam40b	887	Ddx19a	957	Aptx	1027	Tpst1
748	HK2	818	2010321M09Rik	888	Nfe2l3	958	Cdca7l	1028	Pprc1
749	Slc41a1	819	Sec23b	889	Helb	959	Hdac6	1029	Ripk4
750	Wdttc1	820	Srp68	890	4833420G17Rik	960	Sart3	1030	Enoph1
751	Dnajc5	821	Mtfr1	891	Rars	961	Gpi1	1031	Gde1
752	Tsnaxip1	822	Dnm2	892	Lsm6	962	Mpp4	1032	Xpa
753	Slc34a2	823	Dnajc17	893	Blm	963	Eil	1033	Tmem229b
754	Slc25a18	824	Sesn3	894	Ppwd1	964	2610002I17Rik	1034	Mael
755	Ddx43	825	Cnot8	895	Tspan4	965	Dpf2	1035	Gtf2ird1
756	Gnai2	826	Pgd	896	Tyk2	966	Arhgap17	1036	Stx7
757	Cwc22	827	6030422M02Rik	897	Mecr	967	Nkrf	1037	Eif4b
758	Rras2	828	Inpp5k	898	Rrn3	968	Vps4b	1038	N4bp2l1
759	Pfdn2	829	Sf3b2	899	Anp32e	969	Pgmc2	1039	Ramp1
760	Mthfr	830	Atp1b3	900	Vdr62	970	Cpsf3l	1040	Kdm1a
761	Cyp2b23	831	Kdelr2	901	Rpe	971	Ppp2r4	1041	Slc24a6
762	Efnb2	832	Ddx47	902	Eno1	972	Lrrc61	1042	Amc7
763	Ubqln1	833	Akr1a4	903	Gm5506	973	1110020G09Rik	1043	Casp6
764	Mysm1	834	Itga10	904	Ckif	974	Stk38l	1044	Cnnm2
765	Poc5	835	Kif11	905	Bcl2l13	975	Yaf2	1045	Gnl2
766	Spttc2	836	Tctn3	906	Igsf3	976	Nt5c3l	1046	Ninl
767	Cdh3	837	Iws1	907	Trappc3	977	Usp20	1047	St5
768	Mrip137	838	Apfp2	908	Nup107	978	Stard7	1048	Cbw1d1
769	Atad2	839	Cox7a2l	909	Ppp1cb	979	Klhdc2	1049	Mxd1
770	Chit1	840	Psap	910	Cdk7	980	Foxk2	1050	Syap1

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧(4)

順位	symbol								
1051	4632434I11Rik	1121	Htati2	1191	Cenpi	1261	Ell2	1331	Bnip3l
1052	Il17rd	1122	Ccdc65	1192	Ube2v1	1262	Erlin1	1332	C330019G07Rik
1053	Whamm	1123	1700030K09Rik	1193	Cenpl	1263	Cttnbp2nl	1333	Hspa9
1054	5430407P10Rik	1124	Tmem50b	1194	Tmem189	1264	Ppat	1334	Gga2
1055	Nudt21	1125	Arhgef7	1195	Frg1	1265	Dad1	1335	Cbl
1056	Kit	1126	Cpa2	1196	Ccdc64	1266	Pcnp	1336	Ncapd3
1057	Ctdp1	1127	Faah	1197	Ficn	1267	Npc111	1337	Nufip1
1058	Ccdc12	1128	Atp6v1b2	1198	Rrbp1	1268	Arhgef12	1338	Zcchc14
1059	Hmgcr	1129	Scarb1	1199	Lig1	1269	Arhgef26	1339	Lrit3
1060	Rundc2a	1130	Zscan20	1200	Notch2	1270	Tram1	1340	Mastf
1061	Dhfr	1131	Parp12	1201	2610002D18Rik	1271	Stt3	1341	Eprs
1062	Map2k3	1132	Wwc2	1202	Tpmt	1272	Tpr	1342	Brpf3
1063	Med26	1133	Ephb3	1203	Las1l	1273	Sdcbp	1343	Lrrc43
1064	Sarnp	1134	Cry2	1204	Gclm	1274	Epb4.1l2	1344	Dnajc15
1065	Ahctf1	1135	Fam178a	1205	Rnf185	1275	Tecr	1345	Kremen1
1066	Lmbr1l	1136	Rabepk	1206	Ss18	1276	Cdc5l	1346	Lss
1067	Rgmb	1137	Acot7	1207	Gtf2e1	1277	Arhgef18	1347	Slc16a4
1068	Prkrip1	1138	Atp1a1	1208	Tsc1	1278	Dna2	1348	Dazap1
1069	Atp6v1c1	1139	Ttc7	1209	Map2k6	1279	Ppp4r2	1349	Sort1
1070	6720456B07Rik	1140	Anks3	1210	Xylb	1280	D19Wsur162e	1350	Ints9
1071	Caprin1	1141	Pygb	1211	Ttc19	1281	Jakmip1	1351	Nup155
1072	Kcnk5	1142	Hagh	1212	Klhl6	1282	Polr1e	1352	Prrm7
1073	Zmynd8	1143	C230096C10Rik	1213	Colec11	1283	Wdr1	1353	B4galnt3
1074	Ccdc40	1144	Fam175a	1214	Ezr	1284	Bcap31	1354	Ccny1l
1075	Actr5	1145	Atp1b1	1215	Cdk12	1285	Jam3	1355	Golt1b
1076	Mlxip	1146	Trnau1ap	1216	Dcakd	1286	Glpc2	1356	Vcp
1077	Banp	1147	Nrd1	1217	Limk1	1287	Eif4h	1357	Arhgap1
1078	Pigb	1148	Dis3l	1218	Ppp2r5e	1288	Tyro3	1358	Polr3gl
1079	Cap1	1149	Ppp1r12c	1219	10-Mar	1289	Jmjd5	1359	Ints4
1080	Ubr4	1150	Smtn	1220	Mon1a	1290	Ankrd46	1360	Sync
1081	Hormad1	1151	Rnf20	1221	Slc25a31	1291	Preli2	1361	Kctd13
1082	Zfp472	1152	Cln1	1222	Rapgef1l	1292	Edem1	1362	Hars
1083	Nus1	1153	Fat1	1223	Gpcpd1	1293	Ccdc61	1363	Rrp12
1084	Higd1c	1154	Gclc	1224	Citb	1294	Utp15	1364	Abtb2
1085	Ehd1	1155	And4a	1225	Slc16a6	1295	Chmp4b	1365	Uchl5
1086	Huwe1	1156	Taf12	1226	lpo13	1296	Tyh2	1366	Hvcn1
1087	Usp15	1157	Slc25a30	1227	Cecr5	1297	Shfm1	1367	Lacl1
1088	Cstf3	1158	Map3k4	1228	Nploc4	1298	Psm1	1368	Cops7b
1089	Nans	1159	Nup50	1229	Sumf2	1299	Heat1	1369	Laptm5
1090	Xpot	1160	Myh9	1230	Ldlrap	1300	C330007P06Rik	1370	6430548M08Rik
1091	Slc9a3r1	1161	Becn1	1231	Rpn2	1301	Fam102b	1371	Anln
1092	Elmo2	1162	Pnidc1	1232	Tesk2	1302	Hnrnpul1	1372	Rbm17
1093	Ovgp1	1163	Gm2058	1233	Eng	1303	Scly	1373	Ppfia3
1094	Rcan1	1164	Polr1a	1234	Adam17	1304	Mad111	1374	Mospd2
1095	P4ha2	1165	Cdo1	1235	Tex10	1305	Ankrd13c	1375	Plekhhf2
1096	Pold3	1166	Ube2h	1236	Tmem184b	1306	Ikbkap	1376	Nt5dc3
1097	Wsb1	1167	Dpysl2	1237	Aco1	1307	Tax1bp1	1377	Helq
1098	Nol11	1168	Brap	1238	Ttk	1308	Mtch2	1378	L3mbtbl1
1099	Tialf	1169	Zfand6	1239	Slc39a9	1309	Mtmr12	1379	Pspc1
1100	Slc12a6	1170	Slc9a1	1240	Rnf11	1310	Slc12a7	1380	Pcgf5
1101	Csrp1	1171	Kctd5	1241	Scg5	1311	Wdr67	1381	Clk4
1102	Smarcb1	1172	Rab4a	1242	Chuk	1312	Ggnbp2	1382	Ppp2ca
1103	Foxo1	1173	9430020K01Rik	1243	Csnk2a1	1313	Sympk	1383	Ubac2
1104	Mapk4	1174	Ubap1	1244	Atf7ip2	1314	Pfkp	1384	1700019B03Rik
1105	Tceb3	1175	Ifngr2	1245	Ncapg2	1315	Cfdp1	1385	Zfp958
1106	Rrh	1176	Pitpna	1246	Bsdc1	1316	Dhx38	1386	Cog4
1107	Stx12	1177	Mtss1	1247	Maea	1317	Chst12	1387	2310035C23Rik
1108	Ube4b	1178	Zranb1	1248	Canx	1318	Mrp13	1388	Dnajc8
1109	Bub1	1179	Prdx4	1249	Kntc1	1319	Fam126b	1389	Prpf18
1110	1700012A16Rik	1180	Tmem116	1250	Llgl2	1320	Gls	1390	Npc1
1111	Dpp3	1181	Gabpb1	1251	Setr	1321	Cenpe	1391	Cab39
1112	Pard6b	1182	Rnf123	1252	Cln6	1322	Self1	1392	Larp4b
1113	Dnajb12	1183	Adnp2	1253	Adck3	1323	Pum1	1393	Kbtbd11
1114	Usp33	1184	6330408A02Rik	1254	Tcof1	1324	Suv420h1	1394	Gm17296
1115	Gemin5	1185	Supv3l1	1255	BC057022	1325	Ahcy1l	1395	Abat
1116	Cpt1a	1186	Eif4ebp2	1256	Casc5	1326	Rps6ka1	1396	Kdm4a
1117	Nostrin	1187	Armc1	1257	Trp53inp1	1327	Me2	1397	Cdc26
1118	Nemf	1188	Akr1b8	1258	Slc25a17	1328	Erich1	1398	2210018M11Rik
1119	Rab1	1189	Jup	1259	Metap2	1329	Ercc6	1399	Pfkfb3
1120	Rfwd3	1190	Gpsm2	1260	Supt6h	1330	Mtif2	1400	Mxi1

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (5)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
1401	Tor3a	1471	Grhl3	1541	Ogt	1611	Fbxo42	1681	Rprd1a
1402	Idh3a	1472	Zbtb11	1542	Spn	1612	Ccnt2	1682	Hnf1a
1403	Wdr86	1473	Spnb3	1543	Dapl1	1613	Kdsr	1683	G2e3
1404	Camsap1	1474	Stxbp1	1544	Ldhc	1614	Sumo1	1684	Tmem39b
1405	Stom	1475	Gprc5a	1545	Ptcd1	1615	Fam164b	1685	Cramp1l
1406	Cyp2c44	1476	Irf27	1546	Lcmt1	1616	Mark3	1686	Mlh3
1407	Hn1l	1477	Caskin1	1547	Mfn1	1617	Gpatch1	1687	Basp1
1408	Ptch2	1478	Mfge8	1548	Ppcdc	1618	Dbt	1688	Ap3d1
1409	Polh	1479	Rab8b	1549	Bbs1	1619	Smpdl3b	1689	Finb
1410	Ccdc77	1480	Psmc11	1550	Ankrd35	1620	Grhl2	1690	Mgea5
1411	1500003O03Rik	1481	Abcg1	1551	Wars	1621	Csrp2	1691	Atg5
1412	Ufd1l	1482	Tead2	1552	Bend3	1622	Rab2b	1692	1700054N08Rik
1413	Ccdc63	1483	Spag5	1553	Rcc2	1623	Cisd2	1693	Mfsd7c
1414	Pcmdt1	1484	Arngap8	1554	Nup54	1624	Tbc1d8	1694	Zfp384
1415	Ppil4	1485	Rbpms2	1555	Aldh18a1	1625	Pomt1	1695	Tll9
1416	Zfp395	1486	Pkig	1556	Dennd2a	1626	Ddx27	1696	Ngfr
1417	Zbtb40	1487	Csnk1d	1557	Magt1	1627	U2af2	1697	Ogdh
1418	Stk30	1488	Coro1c	1558	Tubgcp3	1628	Syt11	1698	Ttf2
1419	Atg14	1489	Phf17	1559	Fam122b	1629	Zfp444	1699	Fam160b1
1420	Tmprss9	1490	Cars	1560	Gils2	1630	Snx8	1700	Ddr2
1421	Mrps18a	1491	Mtch1	1561	Actn3	1631	Rbfox2	1701	Dctn6
1422	Diexf	1492	Yap1	1562	Pdxk	1632	Mmp17	1702	1500002O20Rik
1423	Serinc3	1493	Fbxw2	1563	Cd163	1633	Lima1	1703	Estf1
1424	Nudt3	1494	Top1mt	1564	2510003E04Rik	1634	Rimk1b	1704	Snta1
1425	Padi2	1495	Hdac3	1565	Pla2g12a	1635	Smarce1	1705	Zc3hav1
1426	Snx3	1496	Sec11a	1566	Tte1	1636	Trak2	1706	Plekhb2
1427	Birc3	1497	Tmem65	1567	Ptplad1	1637	Brd1	1707	Tspan13
1428	Ddx42	1498	Orc3	1568	Atp6v1h	1638	Ankrd22	1708	Malt1
1429	Pdpk1	1499	Bcmo1	1569	Ddx25	1639	Zfp398	1709	2310022A10Rik
1430	Lsg1	1500	Anapc7	1570	Ap3b2	1640	Lgals9	1710	Ccdc92
1431	2-Sep	1501	Psmb7	1571	Cdc27	1641	Col20a1	1711	Pdcd6ip
1432	Dnajc27	1502	Stau1	1572	Gprc5b	1642	Zswim2	1712	Smek2
1433	Atp6v1e1	1503	4632415K11Rik	1573	Crkl	1643	Tctn2	1713	Nos3
1434	Wdr4	1504	Luzp1	1574	Pmtf0	1644	E2f7	1714	Ikzf5
1435	Tnpo1	1505	Col9a3	1575	Vrk1	1645	Cyth1	1715	Lrrc8d
1436	Zfp821	1506	Hs6st1	1576	Cmtm7	1646	Bclaf1	1716	RhoH
1437	Rap1b	1507	Cul4a	1577	Lect1	1647	Vat1l	1717	Suv39h2
1438	Osbpl8	1508	Fgfr1op	1578	Zfp516	1648	Mapkapk5	1718	Tm9sf4
1439	Lmtk3	1509	Prkcd	1579	Shroom3	1649	Zfp951	1719	Uros
1440	Poir1b	1510	Srsf11	1580	Mgst3	1650	Dusp27	1720	Cdc7
1441	Brd8	1511	Piwil2	1581	Tom1	1651	Pstpip2	1721	Secisbp2l
1442	Ilkap	1512	Ttc33	1582	Rrp15	1652	Tubgcp5	1722	Atxn3
1443	Pus7	1513	Chd5	1583	Vps33b	1653	Oxsr1	1723	Actn2
1444	Cmb1	1514	Kif21b	1584	Sec14l2	1654	Ubr2	1724	Dpys15
1445	Tfdp1	1515	Nod2	1585	Larp1	1655	Trim37	1725	Ccdc48
1446	Smad2	1516	Ankfy1	1586	Gns	1656	Fam3c	1726	4632411B12Rik
1447	Tstd2	1517	Traf6	1587	Aasdh	1657	Fa2h	1727	Ero1l
1448	Eif3a	1518	Eif2ak2	1588	Pkn2	1658	Gna12	1728	Aifm3
1449	Mdh1	1519	Cpn1	1589	Cadm4	1659	Ppp4r1	1729	Dync1h1
1450	Mbtps1	1520	Fech	1590	Tbc1d23	1660	Utp18	1730	Evl
1451	Ss18l1	1521	Dstn	1591	Snrpd3	1661	Rbm28	1731	Rnf2
1452	Slc25a36	1522	Nek3	1592	Nxn	1662	Zc3h13	1732	Slc5a4a
1453	BC016423	1523	Mastl	1593	Sp1	1663	Tll3	1733	Rab5a
1454	Dis3	1524	Shisa5	1594	Gnb1l	1664	Hnmpd	1734	NaaA
1455	Herc1	1525	Ppp6r1	1595	Lig3	1665	Tkt1	1735	Cicn3
1456	Ugdh	1526	Pppde2	1596	Tmem168	1666	EtfA	1736	Rere
1457	Nfic	1527	Herc4	1597	Gas2l3	1667	Aars	1737	4933433P14Rik
1458	Sbf1	1528	Tjp2	1598	Slc7a8	1668	Tmem104	1738	Fbf1
1459	Rtel1	1529	Usp38	1599	Tbc1d14	1669	Gsptf	1739	Amz1
1460	Eif5b	1530	Stard3nl	1600	Ilfr2	1670	Mppe1	1740	Elov15
1461	Gdgd1	1531	Mfsd1	1601	Arfgap3	1671	Acpl2	1741	Lpin3
1462	D14Abb1e	1532	1700011E24Rik	1602	Pkp4	1672	Ptpn22	1742	Acad8
1463	Napg	1533	Snap47	1603	Rassf4	1673	Brd7	1743	Il10rb
1464	Pik3r1	1534	Tubgcp6	1604	Ndr3	1674	Nup35	1744	Fam105a
1465	Usp53	1535	Mapkapk2	1605	Wdr47	1675	Ralgds	1745	Cpsf6
1466	Arhgef40	1536	Hat1	1606	Csfr1	1676	Map3k2	1746	Ighmbp2
1467	Paics	1537	Rap2a	1607	Camkk2	1677	Mtap6	1747	Pcyt1a
1468	Carkd	1538	Tmem120b	1608	Trim69	1678	Fam107b	1748	2700097O09Rik
1469	Tuba8	1539	Unkl	1609	Trpm5	1679	Adpgk	1749	Rptor
1470	Senp5	1540	Smg7	1610	Snapc3	1680	Arxa11	1750	Gosr2

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧(6)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
1751	Hadh	1821	Aloxe3	1891	Sgpp2	1961	Ppm1f	2031	Atc
1752	Ccdc111	1822	Larp1b	1892	Vwa2	1962	Dhx40	2032	Crebl2
1753	Crocc	1823	Zc3h7a	1893	Prkcc	1963	Fbxo38	2033	Zcchc4
1754	Fbln1	1824	Map3k3	1894	Acap2	1964	Slc12a2	2034	Wapal
1755	Ddb2	1825	Cntrob	1895	Tanc1	1965	Ercc4	2035	Lsm12
1756	Nudcd3	1826	Trim67	1896	Ehd4	1966	Fam178b	2036	Gfra3
1757	Nf2	1827	Eif4e	1897	Rab20	1967	Tcea3	2037	Lats1
1758	Wdr3	1828	Rgl1	1898	Slc37a1	1968	Fam49a	2038	Ccdc162
1759	Mpzl3	1829	Pptc7	1899	Hadha	1969	Trpc4ap	2039	Rell1
1760	Brms1f	1830	Cndp2	1900	Pilp	1970	Tmc3	2040	Ipo5
1761	Map3k9	1831	Hira	1901	Irak3	1971	C130039O16Rik	2041	Bcor
1762	Cmas	1832	Anp32a	1902	Apts3	1972	Tsg101	2042	Klhdc10
1763	Ehhadh	1833	Ppm1a	1903	Taf1	1973	Faim2	2043	Slc6a4
1764	Asns	1834	Olfm2	1904	Acat1	1974	Ascc2	2044	Smarca2
1765	Statf1	1835	Odf2l	1905	Agpat3	1975	Slc16a10	2045	Rad52
1766	Gng12	1836	Klhl7	1906	Zbtb38	1976	Eif3b	2046	Sema7a
1767	Chpt1	1837	Pfkfb4	1907	Kdm5a	1977	Denr	2047	Avil
1768	Picxd2	1838	Fam53b	1908	Pth1r	1978	Tipr1	2048	Bcor1f
1769	Isoc1	1839	Dgcr8	1909	Abcc1	1979	Ptgr1	2049	Stxbp3a
1770	Nat15	1840	Lgr4	1910	Rsbn1f	1980	Ppa1	2050	Nt5c3
1771	Peli1	1841	Dnttip1	1911	Cul2	1981	Slc1a4	2051	Nadsyn1
1772	Scppdh	1842	Nup160	1912	Klhl18	1982	Depdc5	2052	Ltbp4
1773	Gpr89	1843	Zmat5	1913	Rheb	1983	Ddx31	2053	Rilp1f
1774	Thumpd3	1844	Sars	1914	Stt3a	1984	Kpna6	2054	Nomo1
1775	Cpsf7	1845	0610037P05Rik	1915	Paxip1	1985	Pi4k2b	2055	Tspan15
1776	Siah1a	1846	Pdcd10	1916	Ssfa2	1986	Zbtb10	2056	Rpap3
1777	Rab11fip5	1847	Ttc39a	1917	Zfp568	1987	Spp13	2057	Aim1f
1778	Agpat5	1848	Zcchc24	1918	Klhl3	1988	Fam108b	2058	Tex2
1779	Lpl	1849	Slc39a10	1919	Traip	1989	Fisd	2059	Abhd12
1780	Tcfcp21f	1850	Dhx29	1920	Dpysl3	1990	Trub1	2060	Pinx1
1781	Rtkn2	1851	Relb	1921	Axin1	1991	C630004H02Rik	2061	6430573F11Rik
1782	Ckap2l	1852	Itgb2	1922	Slc7a7	1992	Rab3ip	2062	Fuca1
1783	Inpp4a	1853	Acacb	1923	Ywhab	1993	Ysk4	2063	Tie4
1784	Tssc1	1854	Zc3h12d	1924	Slc7a1	1994	Dnajb14	2064	Mtor
1785	Unk	1855	Sh3tc2	1925	Uhrf2	1995	Bcat2	2065	BC017158
1786	Tbc1d10a	1856	Agps	1926	Ubl3	1996	Pcsk7	2066	Mvp
1787	Sec63	1857	Nik	1927	Nup153	1997	Usp49	2067	Ate1
1788	Fosl2	1858	4921524J17Rik	1928	Dhcr24	1998	Droscha	2068	As3mt
1789	Lrrc51	1859	Rapgef1	1929	Kdm3a	1999	Stra8	2069	Ugcg
1790	D16H22S680E	1860	Comt	1930	Rgs9	2000	Wipf2	2070	Bpntf
1791	Tceaf1	1861	Tbc1d1	1931	Ocln	2001	Ccdc62	2071	Dhx32
1792	Acvr1b	1862	Tbx20	1932	Entpd7	2002	4632428N05Rik	2072	D6Wsu116e
1793	Ndel1	1863	Mccc2	1933	Gxy1t1	2003	Pdlim5a	2073	Hspa12a
1794	Car5b	1864	Spred2	1934	Cbfa2t2	2004	Rps6ka5	2074	Itm2b
1795	Csk	1865	Hspa4l	1935	Arfgf2	2005	Etnk1	2075	Sgpp1
1796	Ept1	1866	1700020O03Rik	1936	Acer2	2006	6330512M04Rik	2076	Dnmt3b
1797	Fastkd2	1867	Rtf1	1937	Cytp1	2007	Hadhb	2077	Cog3
1798	Sbno1	1868	Sgms1	1938	Arid3b	2008	Rnf149	2078	Wwp1
1799	Pld3	1869	Adar	1939	Nfatc1	2009	Ppard	2079	Ppt1
1800	Slc8a2	1870	Tmem206	1940	Rusc2	2010	Mlitf	2080	Adipor2
1801	2410076I21Rik	1871	Tef	1941	Mapt	2011	A1848100	2081	Daam1
1802	Pdlim1	1872	Rnf19a	1942	Plagl1	2012	Pitb2	2082	Arhgef37
1803	4921513D23Rik	1873	2310028H24Rik	1943	Pbx4	2013	Plkd2l1	2083	Pds5a
1804	Atad3a	1874	Zmynd12	1944	Elovl2	2014	Fbxo21	2084	Slc29a3
1805	Fnbp1	1875	Wee1	1945	Neo1	2015	Fam176a	2085	Rbbp5
1806	Lpcat3	1876	Tnfaip8	1946	Trit1	2016	Cdk19	2086	Dsp
1807	Stx2	1877	Hiat1	1947	Stk10	2017	Hnmpm	2087	Xpnpep3
1808	Griff1	1878	Podxl2	1948	Rbbp6	2018	Psmc12	2088	Nup98
1809	Acsf2	1879	1700052N19Rik	1949	Ccdc66	2019	Zfp1	2089	7-Sep
1810	Psph	1880	Amica1	1950	Sema4a	2020	Igf2r	2090	Aggf1
1811	Snph	1881	Usp43	1951	Nod1	2021	Thoc5	2091	Smarca5
1812	Rad54l2	1882	Kif20b	1952	Ncf2	2022	Gbx1	2092	Kif18a
1813	Diap1	1883	Ccdc37	1953	Rnf121	2023	Amt	2093	Grap
1814	Rab9	1884	Carm1	1954	Il6ra	2024	Glr3	2094	1200016B10Rik
1815	Chfr	1885	Bco2	1955	Ostm1	2025	Fam48a	2095	Glt25d2
1816	Heatr7a	1886	Glis1	1956	Ostf1	2026	Txn1f	2096	Mier3
1817	Tmem44	1887	Rnf144b	1957	Itga7	2027	Gm711	2097	Taf2
1818	Mlf1	1888	Cno1b	1958	Iqgap1	2028	Zfyve27	2098	Kank4
1819	Recq15	1889	Nmt1	1959	Eif3j	2029	Dcun1d2	2099	Rint1
1820	Arhgef10	1890	Clpx	1960	Stat2	2030	Hs2st1	2100	1810048J11Rik

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I - 3. 1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (7)

順位	symbol								
2101	Sos1	2171	Pak2	2241	Slc26a11	2311	Hal	2381	Arhgef3
2102	Lphn1	2172	E430025E21Rik	2242	Cdc14b	2312	Xpo6	2382	Irak2
2103	Anxa6	2173	Dapp1	2243	Mms19	2313	Rnf138	2383	Plekho2
2104	Akt2	2174	Itpr1	2244	Slc25a13	2314	Kdm5c	2384	Rab40c
2105	Arid1a	2175	Olfml2a	2245	Eif2s1	2315	Zfp182	2385	Ubxn11
2106	Myh10	2176	Tnpo3	2246	Gbas	2316	Tmem209	2386	Med24
2107	Uggtf	2177	Npat	2247	Npat	2317	Zc3h3	2387	Myo5c
2108	Prcc	2178	15-Sep	2248	Spsb4	2318	Rasgrp3	2388	Ccdc25
2109	2310022B05Rik	2179	Faf2	2249	Dcaf13	2319	Bdh2	2389	Slc43a1
2110	Wdr25	2180	Stom13	2250	Entpd5	2320	Dennd3	2390	Ampd3
2111	Cryz1f	2181	Mys12	2251	Habp2	2321	Ube2l3	2391	Hpcal1
2112	Gpr19	2182	2310067B10Rik	2252	Atp7b	2322	2700078K21Rik	2392	Dhx34
2113	Mettl16	2183	Tmem123	2253	Med13l	2323	Ppp1r12a	2393	Phax
2114	Ddx46	2184	Zfp933	2254	1810008A18Rik	2324	Tex9	2394	Ppef2
2115	Fsd2	2185	Rbm47	2255	Wnt3	2325	Poc1b	2395	Brd3
2116	Thoc1	2186	Syt2	2256	Slc25a27	2326	Scd3	2396	Clint1
2117	Eftud2	2187	Fam98b	2257	Nfatc3	2327	Tfg	2397	Papd5
2118	Lipm	2188	Clasrp	2258	Dus2l	2328	Soat1	2398	Lmod1
2119	Dzip1	2189	Snurf	2259	Tcp11l2	2329	Rp9	2399	Aox1
2120	Hlf	2190	Kif1c	2260	AK129341	2330	Glipr2	2400	Fam168b
2121	Noc3l	2191	1190005106Rik	2261	Fnbp1l	2331	Ccdc38	2401	Pias1
2122	Mink1	2192	Egln3	2262	Pten	2332	Fam55c	2402	Aldh7a1
2123	Rhoa	2193	Rnf41	2263	St14	2333	Abcb10	2403	Anp32b
2124	Zfc3h1	2194	Brp44	2264	Baiap2l1	2334	Ppp1r16b	2404	Megf11
2125	Ubxn7	2195	Ttc15	2265	Wasl	2335	Ar15b	2405	Clybl
2126	Tspan5	2196	Smad2	2266	Npr3	2336	Antxr1	2406	Stard13
2127	Wsf2	2197	Trim26	2267	Ptpn2	2337	Capza2	2407	Copz1
2128	Atpaf1	2198	Pick1	2268	Rragd	2338	Pcdhgc3	2408	Mapre3
2129	Mboat2	2199	Syt7	2269	AW146020	2339	Syncrip	2409	Hsd17b12
2130	Gsr	2200	Nipal1	2270	Sucla2	2340	Gm8439	2410	Zfp410
2131	Cbs	2201	Psmf1	2271	Pik3c2a	2341	Morn1	2411	Fam184b
2132	Tbk1	2202	Utp20	2272	Vcl	2342	Socs5	2412	Spg11
2133	Galnt2	2203	Wnt9b	2273	Asap2	2343	Osbp11	2413	Gfra1
2134	Grin1	2204	Morn5	2274	Dcbld1	2344	Klraq1	2414	Mapk1ip1l
2135	Cdc42bpb	2205	Itga6	2275	Osbp2	2345	Rock2	2415	Lyn
2136	Ar15	2206	Chic2	2276	Phf6	2346	Echdc3	2416	Gpa33
2137	Hoga1	2207	Crot	2277	Nphp1	2347	Sntb2	2417	Afap11
2138	Gypc	2208	Ctdspl2	2278	Tabgcp4	2348	1110028C15Rik	2418	Sh3d19
2139	Slc9a8	2209	Lrpprc	2279	Galnt1	2349	Sennc2	2419	Lin52
2140	Atp2c1	2210	Gpatch8	2280	Smek1	2350	Lass4	2420	Zdhhc13
2141	St6gal1	2211	D16Ert472e	2281	Bzw2	2351	Tec	2421	Tm7sf3
2142	Usp18	2212	Pip4k2a	2282	BC021891	2352	Aspscr1	2422	Zfhx2
2143	Srd5a1	2213	Psm19	2283	Gabbr1	2353	Lrsam1	2423	Gg7
2144	Cog2	2214	Cuedc1	2284	Tjp1	2354	Kif19a	2424	Cyp46a1
2145	Crispld2	2215	Ano10	2285	Chid1	2355	Uvrag	2425	Bbs2
2146	Hs3st3b1	2216	Gcnt2	2286	Rwd1	2356	Tab1	2426	Tct27
2147	Abca4	2217	Fancm	2287	Arhgap27	2357	Trank1	2427	Lass6
2148	Odf1	2218	Tmem33	2288	Ahcy12	2358	Reep1	2428	Scube3
2149	Pex14	2219	Ppp3r1	2289	Ccdc136	2359	Mlph	2429	Prrc2c
2150	Tsc22d3	2220	Ccdc36	2290	Tppp	2360	Lin9	2430	Ift172
2151	Uso1	2221	Tmem57	2291	Csnk1g3	2361	Pafah1b1	2431	Plod1
2152	Gpr161	2222	Ppp5c	2292	Mettl10	2362	Afap1	2432	Zfp106
2153	Cd9	2223	Ube2o	2293	Zfp180	2363	Leo1	2433	Snap29
2154	Tnrc6a	2224	Gm1123	2294	Mapk8ip3	2364	Prpf39	2434	Pls3
2155	Spats1	2225	Arhgef2	2295	Cnot10	2365	Kctd19	2435	Rpia
2156	Nlgn3	2226	Rgs10	2296	Ranbp2	2366	Kif5b	2436	Trappc8
2157	Fnip2	2227	Aifm1	2297	Zfyve20	2367	Mphosph9	2437	Bid
2158	Ccdc34	2228	3010026O09Rik	2298	Srx31	2368	B4gal1f	2438	Cda
2159	1110037F02Rik	2229	Cat	2299	N4bp1	2369	Ctnnbip1	2439	Ttc38
2160	Fam188b	2230	Muc4	2300	Nphp3	2370	4930547N16Rik	2440	Tdp1
2161	Tspan9	2231	Pecam1	2301	Fam179a	2371	Fam169a	2441	Nudt15
2162	Orai2	2232	Phf11	2302	Colq	2372	Atp6v1a	2442	D19Ert4386e
2163	Katnal1	2233	Chst5	2303	Ndufaf2	2373	Fads2	2443	4921517L17Rik
2164	Hdac2	2234	Pop1	2304	4930422G04Rik	2374	I7Rn6	2444	Zfp143
2165	Rad54b	2235	Tlk2	2305	Amfr	2375	Glra1	2445	Atcay
2166	Depdc1b	2236	Usp12	2306	Dip2b	2376	Kdm3b	2446	Vkorc111
2167	Srrm3	2237	Rprd1b	2307	Golm1	2377	Stx1a	2447	Msl2
2168	Cdc73	2238	Tbc1d22b	2308	Tpcn2	2378	Atf6	2448	Fbxo10
2169	Cyp26b1	2239	Smpd3	2309	Uqcc	2379	Pde9a	2449	Cog6
2170	Mobkl1a	2240	Jak1	2310	Smad7	2380	Pgap1	2450	Foxj2

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (8)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
2451	<i>Cicn7</i>	2521	<i>Frem3</i>	2591	<i>Rbm20</i>	2661	<i>Fgfr1</i>	2731	<i>Xpo5</i>
2452	<i>Ttf1</i>	2522	<i>Zfp609</i>	2592	<i>Ppl</i>	2662	<i>Lhfp12</i>	2732	<i>Fbxo25</i>
2453	<i>Ovo12</i>	2523	<i>Cep192</i>	2593	<i>Mak</i>	2663	<i>Accn2</i>	2733	<i>Cttn</i>
2454	<i>Pknox1</i>	2524	1600021P15Rik	2594	<i>Tecpr2</i>	2664	<i>Vgll4</i>	2734	<i>Ndufa10</i>
2455	<i>Clec16a</i>	2525	<i>Anks1</i>	2595	<i>Plekhh3</i>	2665	<i>Loxhd1</i>	2735	<i>Ubxn2a</i>
2456	<i>Pigg</i>	2526	<i>Tnfrsf9</i>	2596	<i>Nfix</i>	2666	<i>Capza1</i>	2736	<i>Ankmy2</i>
2457	<i>Pogz</i>	2527	<i>Atp8a1</i>	2597	<i>Uevld</i>	2667	<i>Ifnar2</i>	2737	<i>Ncoa5</i>
2458	<i>Tpp2</i>	2528	<i>Tgfb1</i>	2598	<i>Jph3</i>	2668	<i>Gats12</i>	2738	<i>Mgat3</i>
2459	<i>Dtx1</i>	2529	<i>Ccdc85c</i>	2599	<i>Eml5</i>	2669	<i>Ptpn13</i>	2739	<i>Lrm2</i>
2460	<i>Pibf1</i>	2530	<i>Nhedc2</i>	2600	<i>Trpm7</i>	2670	<i>Zdhhc3</i>	2740	<i>Eps8</i>
2461	<i>Ube2e3</i>	2531	<i>Smad1</i>	2601	<i>Gnpat</i>	2671	<i>Ralb</i>	2741	<i>Tmem45b</i>
2462	<i>Arl6ip6</i>	2532	<i>Nipa2</i>	2602	<i>Psama5</i>	2672	<i>Grap2</i>	2742	<i>Ag1</i>
2463	<i>Ube2d1</i>	2533	<i>Trim24</i>	2603	<i>Nfat5</i>	2673	<i>Pcdhgc4</i>	2743	<i>Kif24</i>
2464	<i>Tm9sf2</i>	2534	<i>Myof</i>	2604	<i>Pde6b</i>	2674	<i>Sic35d2</i>	2744	<i>Myrip</i>
2465	<i>Ube2k</i>	2535	<i>Ppp1r16a</i>	2605	<i>Bdp1</i>	2675	<i>Ptpn1</i>	2745	<i>Cdh23</i>
2466	<i>Syt17</i>	2536	<i>Pag1</i>	2606	<i>Mrs2</i>	2676	<i>Pdgfra</i>	2746	<i>Cul9</i>
2467	<i>Hnrp11</i>	2537	BC026585	2607	<i>L1cam</i>	2677	<i>Lsp1</i>	2747	<i>Dag1</i>
2468	<i>Lgr6</i>	2538	<i>Agap3</i>	2608	<i>Myo15</i>	2678	<i>Zfp523</i>	2748	9530077C05Rik
2469	<i>Xpr1</i>	2539	<i>Prmt3</i>	2609	<i>Prmp</i>	2679	<i>Ap1ar</i>	2749	<i>Trpv4</i>
2470	<i>Adamts7</i>	2540	<i>Camsap11i</i>	2610	<i>Tie3</i>	2680	<i>Vps37c</i>	2750	<i>Fmr1</i>
2471	<i>Sh3kbp1</i>	2541	<i>Ube2n</i>	2611	<i>Mis18bp1</i>	2681	<i>Gsn</i>	2751	<i>Crk</i>
2472	<i>Lix1</i>	2542	4930519G04Rik	2612	<i>Prep</i>	2682	C230081A13Rik	2752	<i>Sic39a14</i>
2473	<i>Parp6</i>	2543	<i>Plekhh1</i>	2613	<i>Pdpr</i>	2683	<i>Plekha8</i>	2753	<i>lft88</i>
2474	<i>Ap3b1</i>	2544	<i>Acad10</i>	2614	<i>Ndc80</i>	2684	C530008M17Rik	2754	<i>Fam117b</i>
2475	<i>Topbp1</i>	2545	<i>Glod4</i>	2615	<i>Rgs3</i>	2685	<i>Arap2</i>	2755	<i>Tmtc4</i>
2476	<i>Il20ra</i>	2546	<i>Eif2c1</i>	2616	<i>Ints7</i>	2686	<i>Hormad2</i>	2756	<i>Rftn1</i>
2477	<i>Kpna3</i>	2547	<i>Col2a1</i>	2617	<i>Mmd</i>	2687	<i>Skiv2l2</i>	2757	<i>Pik3cb</i>
2478	<i>Lass5</i>	2548	<i>Kctd9</i>	2618	<i>Gnptab</i>	2688	LOC100504473	2758	<i>Pacsin1</i>
2479	<i>Lims2</i>	2549	<i>Tom11i</i>	2619	<i>Catsperg1</i>	2689	<i>Pdk3</i>	2759	<i>Snupn</i>
2480	<i>Snx6</i>	2550	<i>Pgpep1l</i>	2620	<i>Pdia5</i>	2690	<i>Vwa3a</i>	2760	<i>Tdrd7</i>
2481	<i>Stxbp6</i>	2551	<i>Chrd12</i>	2621	<i>Zfyve1</i>	2691	<i>Elovl4</i>	2761	<i>Epb4.9</i>
2482	<i>Sic16a14</i>	2552	<i>Gtpbp4</i>	2622	<i>Smc2</i>	2692	<i>Ulk4</i>	2762	<i>Bcl7a</i>
2483	5031414D18Rik	2553	<i>Tmc7</i>	2623	<i>Dock6</i>	2693	<i>Ak5</i>	2763	<i>Sema4d</i>
2484	<i>Elovl6</i>	2554	<i>Fam38a</i>	2624	<i>Yars</i>	2694	<i>Rerg</i>	2764	<i>Ror2</i>
2485	<i>Cdc16</i>	2555	<i>Cxadr</i>	2625	<i>Endod1</i>	2695	<i>Napepld</i>	2765	D19Ert4737e
2486	<i>Klhdc4</i>	2556	<i>Gnaz</i>	2626	4933411K20Rik	2696	<i>Psg16</i>	2766	<i>Rnf111</i>
2487	<i>Prpf6</i>	2557	<i>Bicc1</i>	2627	<i>Atxn711</i>	2697	<i>Cry1</i>	2767	<i>Nme7</i>
2488	<i>Mto1</i>	2558	<i>Kcnmb4</i>	2628	<i>Setd7</i>	2698	1700001C19Rik	2768	<i>Sik2</i>
2489	<i>Gpr124</i>	2559	<i>Mosc1</i>	2629	<i>Arl3</i>	2699	<i>Nlrc3</i>	2769	<i>Polr3g</i>
2490	<i>Synj1</i>	2560	<i>Mgat4a</i>	2630	<i>Fs11</i>	2700	<i>Sic6a1</i>	2770	<i>Atg7a</i>
2491	<i>Bod1l</i>	2561	<i>Atoh8</i>	2631	<i>Abcb5</i>	2701	<i>Stx3</i>	2771	<i>Amot1f</i>
2492	<i>Gsk3b</i>	2562	<i>Pyroxd2</i>	2632	<i>Pnp1a7</i>	2702	<i>Dnahc2</i>	2772	<i>Lama1</i>
2493	<i>Rab11fip3</i>	2563	<i>Ankdd1b</i>	2633	<i>Dclk3</i>	2703	<i>Peli2</i>	2773	<i>Zfx</i>
2494	<i>Lypd6</i>	2564	<i>Asxl2</i>	2634	<i>Acvr2b</i>	2704	<i>Hlcs</i>	2774	<i>Traf3</i>
2495	<i>Atm</i>	2565	<i>Sic7a6</i>	2635	<i>Prim2</i>	2705	<i>Terf1</i>	2775	<i>Lifr</i>
2496	<i>Hexa</i>	2566	<i>Tnks</i>	2636	<i>Nckap5l</i>	2706	<i>Aak1</i>	2776	<i>Ddx10</i>
2497	<i>Ing3</i>	2567	<i>Ccdc104</i>	2637	<i>Fhl2</i>	2707	<i>Tnfrsf1b</i>	2777	<i>Ephx4</i>
2498	<i>Gcnt1</i>	2568	<i>Arlfp1</i>	2638	BC024479	2708	<i>Sec22a</i>	2778	<i>Ctcf</i>
2499	<i>Pak6</i>	2569	<i>Kif27</i>	2639	<i>Parvb</i>	2709	<i>Sic30a6</i>	2779	<i>Ppp1r13b</i>
2500	<i>Samm50</i>	2570	<i>Farsb</i>	2640	<i>Psm14</i>	2710	<i>Mdn1</i>	2780	<i>Tmem110</i>
2501	<i>Nkd2</i>	2571	<i>Igsf5</i>	2641	<i>Gabrp</i>	2711	<i>Atg3</i>	2781	<i>Tmem132e</i>
2502	<i>Copa</i>	2572	<i>Chd7</i>	2642	<i>Anxa5</i>	2712	<i>Ap2a2</i>	2782	<i>Lemd3</i>
2503	<i>Pdpm</i>	2573	<i>Prex1</i>	2643	<i>Ccdc158</i>	2713	<i>Acer1</i>	2783	<i>Atxn10</i>
2504	<i>Atp6v0d1</i>	2574	AI846148	2644	<i>Lmo1</i>	2714	<i>Ptpnj</i>	2784	<i>Exoc3</i>
2505	<i>Xrn2</i>	2575	<i>Asap3</i>	2645	<i>Ankrd33b</i>	2715	<i>Gfpt1</i>	2785	<i>Ttc39b</i>
2506	<i>Phf21b</i>	2576	<i>Dennd5a</i>	2646	<i>Pgbd5</i>	2716	<i>Fbxo41</i>	2786	<i>Gmcl1</i>
2507	<i>Heatr3</i>	2577	<i>Srsf12</i>	2647	<i>Pnoc</i>	2717	<i>Fbxo8</i>	2787	<i>Elf4</i>
2508	<i>Nup205</i>	2578	<i>Ttc25</i>	2648	<i>Zfp91</i>	2718	<i>Kif2a</i>	2788	<i>Itgb3</i>
2509	<i>Acs1f</i>	2579	<i>Gars</i>	2649	<i>Mtdh</i>	2719	<i>Hipk1</i>	2789	<i>Tbca</i>
2510	<i>Dctn4</i>	2580	<i>Ada</i>	2650	<i>Ap2a1</i>	2720	<i>Paqr5</i>	2790	<i>Tmem130</i>
2511	<i>Mrps27</i>	2581	<i>Chrna5</i>	2651	<i>Arvcf</i>	2721	<i>Sic44a3</i>	2791	<i>Lcp2</i>
2512	<i>Hsf2</i>	2582	<i>Il12rb2</i>	2652	<i>Eno4</i>	2722	<i>Ap1g1</i>	2792	<i>Pitpnc1</i>
2513	<i>Fbxo7</i>	2583	<i>Ankmy1</i>	2653	<i>Asah1</i>	2723	<i>Adcy7</i>	2793	<i>Amot</i>
2514	<i>Sec31b</i>	2584	<i>Mobp</i>	2654	<i>Eml2</i>	2724	1700101E01Rik	2794	<i>Ip6k1</i>
2515	<i>Rfc1</i>	2585	<i>Gne</i>	2655	<i>Cldn14</i>	2725	<i>B4galnt2</i>	2795	<i>Cse1l</i>
2516	<i>Syng1</i>	2586	<i>Fmnl2</i>	2656	<i>Timd2</i>	2726	<i>Polr3e</i>	2796	<i>Pfdn1</i>
2517	<i>Mrrf</i>	2587	<i>Hs1bp3</i>	2657	<i>Heatr8</i>	2727	<i>Zmat4</i>	2797	<i>Trpv2</i>
2518	<i>Polr3b</i>	2588	<i>Ggta1</i>	2658	<i>Cbx5</i>	2728	<i>Pank2</i>	2798	<i>Dlg5</i>
2519	1700123I01Rik	2589	<i>Tnks2</i>	2659	D130043K22Rik	2729	<i>Fgd3</i>	2799	<i>Lyz14</i>
2520	8-Mar	2590	2810002N01Rik	2660	<i>Gramd4</i>	2730	<i>Ercc8</i>	2800	<i>Sipa112</i>

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (9)

順位	symbol								
2801	Dennd2c	2871	Lrrc48	2941	Slc36a3	3011	Srl	3081	Lamc1
2802	Cass4	2872	Fam168a	2942	Ddx6	3012	Ubt2	3082	Nmt2
2803	Dkk3	2873	Lhx4	2943	Smurf2	3013	Iqce	3083	Atp1a4
2804	Dcun1d4	2874	Igf2bp3	2944	Hnrnp1	3014	Dcdc2a	3084	Atg13
2805	Upb1	2875	Sec62	2945	Ccdc147	3015	Tbc1d2	3085	Mlrps28
2806	Spns2	2876	Osbp19	2946	Col17a1	3016	Tmod1	3086	Whsc2
2807	Pole	2877	Rufy2	2947	Gan	3017	Kdm2b	3087	App12
2808	Ptch1	2878	Ccdc138	2948	Mpp5	3018	Inpp5d	3088	Agfg1
2809	Hprt	2879	Fmnl1	2949	Zfp148	3019	Inpp5a	3089	Rasgrp1
2810	Hsd17b11	2880	3830431G21Rik	2950	Agpat9	3020	Tmem2	3090	Arhgap31
2811	Tox2	2881	Hsd12	2951	Rpgrip1	3021	Ak8	3091	Ipo9
2812	Anxa4	2882	A330049M08Rik	2952	Pcdhga11	3022	Slc12a3	3092	2610101N10Rik
2813	Pitpnm2	2883	Fhad1	2953	Aagab	3023	Zfp326	3093	4933427D14Rik
2814	Ak7	2884	Atf1	2954	Urgcp	3024	Ints3	3094	Eri3
2815	Fam188a	2885	Appbp2	2955	Exd2	3025	Fnip1	3095	Pdgfrb
2816	Itga3	2886	Nup210l	2956	Tuft1	3026	Lin54	3096	Arhgap26
2817	Wdr95	2887	Uap1	2957	Wipf1	3027	Esco1	3097	Notch1
2818	Serac1	2888	Nsdh1	2958	Scamp1	3028	Coro2b	3098	Snap91
2819	Cdyl	2889	Kif3c	2959	Tns3	3029	Gm572	3099	Slc18a2
2820	Epc2	2890	Adcy10	2960	Rngtt	3030	Tpcn1	3100	Fubp3
2821	4931406P16Rik	2891	Glthd2	2961	Gpr160	3031	L3mbt3	3101	2010300C02Rik
2822	B4galt6	2892	Zfp608	2962	Mmaa	3032	Lmcd1	3102	Morc3
2823	Klf3	2893	Slc22a18	2963	Mon2	3033	Xiap	3103	Usp54
2824	Serpini1	2894	Sulf1	2964	Otud4	3034	Pcdhgb8	3104	Ttc21a
2825	Fntb	2895	Onecut1	2965	Ptk7	3035	Nlrp4c	3105	Zc3h4
2826	Ppp2r5a	2896	Cacna1h	2966	Cars2	3036	St3gal2	3106	Stox2
2827	Edar	2897	Galnt7	2967	Btdb10	3037	Cpe	3107	Chn2
2828	A730037C10Rik	2898	Msh2	2968	Anub1	3038	Cnksr3	3108	4930578N16Rik
2829	Crtc1	2899	Mb	2969	Rps6kc1	3039	Npcd	3109	Kank2
2830	Tead1	2900	Usp24	2970	Rab31	3040	Ccdc108	3110	P2rx7
2831	Btaf1	2901	Zmiz1	2971	Sh3bgr	3041	Obscn	3111	Wdfy2
2832	Tfdp2	2902	Rtn4r11	2972	Pla2g16	3042	Map3k1	3112	Nvl
2833	D10Bwg1379e	2903	Ccdc39	2973	4930506M07Rik	3043	Acot9	3113	Creb1
2834	Wdr16	2904	1110012J17Rik	2974	Lrrc20	3044	Slc47a2	3114	Sag
2835	Kcng3	2905	Tmem48	2975	Fam20a	3045	Lrrc16a	3115	Fig4
2836	Tnfrsf19	2906	Ric3	2976	Birc6	3046	Ciup1	3116	Ass1
2837	Nrf12	2907	Slc39a11	2977	Mep1b	3047	Uba2	3117	Eif3h
2838	Femt2	2908	Naa15	2978	Pibd1	3048	P4ha3	3118	Pcdhga12
2839	5031439G07Rik	2909	Cables1	2979	Sh2d4b	3049	Cpne5	3119	Arsk
2840	Scp2	2910	Tspan18	2980	A130022J15Rik	3050	Fkbp6	3120	Gch1
2841	Nipa3	2911	Vav1	2981	Rad9b	3051	Adam19	3121	Rasgrf1
2842	Mov10l1	2912	Atp11b	2982	Rassf2	3052	Anapc1	3122	Tmem38b
2843	Ppfbp1	2913	Bcr	2983	Tmem146	3053	Ldlrad3	3123	Prune2
2844	Osbp16	2914	Cdkl3	2984	Pcdhgb7	3054	Nisch	3124	Atf7ip
2845	Dtd1	2915	Kcnq4	2985	Supt16h	3055	Rai14	3125	Megf9
2846	Sdha	2916	Smc1b	2986	Dtnb	3056	Sh3tc1	3126	Dok7
2847	Dhx35	2917	Phlpp2	2987	Cep152	3057	Gmeb1	3127	Anapc10
2848	Arhgap44	2918	Dnajc10	2988	Pitpnb	3058	Akap11	3128	Mn1
2849	Cep110	2919	Rtn4ip1	2989	Pgm2l1	3059	Ptpu	3129	Btda7
2850	Ep300	2920	Gad1	2990	Ubr5	3060	Pcdhga10	3130	Nln
2851	Bmpr2	2921	Kank1	2991	Rfx8	3061	Rbm5	3131	Pde6c
2852	Znrf1	2922	Oprd1	2992	1110018G07Rik	3062	Als2cr11	3132	Rasa2
2853	Slc30a5	2923	Fhdc1	2993	6-Sep	3063	Arsg	3133	Gcc2
2854	Lrrc40	2924	Zdhhc11	2994	Foxp4	3064	Man2a1	3134	Igf2bp1
2855	Zcwpw1	2925	Serinc5	2995	Igdcc4	3065	Itih5	3135	Vps8
2856	Apaf1	2926	Swap70	2996	Smurf1	3066	Scarb2	3136	Bph1
2857	Atad5	2927	Ntf3	2997	Grb10	3067	Ube2ql1	3137	Scit1
2858	Utp6	2928	Appb2	2998	2210012G02Rik	3068	Gramd1b	3138	C2cd3
2859	Lhpp	2929	Txnrd3	2999	Efhf1	3069	Cnnm4	3139	Baz1b
2860	Fn1	2930	Fgf7	3000	Mdga1	3070	Espn	3140	Tph2
2861	Fkbp9	2931	Stim2	3001	Prkc2	3071	Ano7	3141	Tbk1
2862	Neur11a	2932	Prss12	3002	Smoc2	3072	2610109H07Rik	3142	Mtmr10
2863	Gfod1	2933	Ptgfm	3003	Ccdc57	3073	Rapgef6	3143	Nco12
2864	Cgnl1	2934	Pcbp3	3004	Acvr1	3074	Cib4	3144	Rab10
2865	Commnd10	2935	Nmnat3	3005	Mapkap1	3075	Pde4a	3145	B3gnt1
2866	Sp140	2936	Esy2	3006	Cep78	3076	Cacng5	3146	Gsg11
2867	Rxfp2	2937	Wdsub1	3007	Fbln5	3077	Frmd6	3147	Megf6
2868	Vlpr2	2938	Phr1	3008	Nt5c2	3078	Npl	3148	Nsg2
2869	Yeats2	2939	Zfp185	3009	Ptpn3	3079	Rps6ka2	3149	Pcdhga1
2870	Tnrc6b	2940	1110059E24Rik	3010	Usp45	3080	Ttc3	3150	Angpt4

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧(10)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
3151	<i>Cux2</i>	3221	<i>Lrrc69</i>	3291	<i>Pcdhgb1</i>	3361	<i>Pcdhgb2</i>	3431	<i>Gm239</i>
3152	2410089E03Rik	3222	<i>Pcdhga2</i>	3292	2610528E23Rik	3362	<i>Parp11</i>	3432	<i>Rph3a</i>
3153	<i>Bcl2l14</i>	3223	<i>Btdb9</i>	3293	4933427G17Rik	3363	<i>Rassf5</i>	3433	<i>Dap</i>
3154	<i>Phldb1</i>	3224	<i>Efcab4b</i>	3294	<i>Gtf2i</i>	3364	<i>Ube3b</i>	3434	<i>Limch1</i>
3155	<i>Pcdhgb6</i>	3225	<i>Kdm4c</i>	3295	<i>Neto2</i>	3365	<i>Lrrc67</i>	3435	<i>Kif3b</i>
3156	<i>Npnt</i>	3226	<i>Fam13c</i>	3296	<i>Mtbp</i>	3366	<i>Col4a2</i>	3436	<i>Ppp1r12b</i>
3157	<i>Slc25a33</i>	3227	<i>Gpr107</i>	3297	<i>Tpst2</i>	3367	<i>Cdc40</i>	3437	<i>Agtr1a</i>
3158	<i>St8sia5</i>	3228	<i>Chd1l</i>	3298	<i>Aatf</i>	3368	<i>Cry1l</i>	3438	<i>Fto</i>
3159	<i>Lrp11</i>	3229	<i>Ero1lb</i>	3299	<i>P2rx3</i>	3369	<i>Papss2</i>	3439	<i>Gfm1</i>
3160	<i>Wdr59</i>	3230	<i>Lingo1</i>	3300	<i>Rnf115</i>	3370	<i>Asb18</i>	3440	<i>Fut10</i>
3161	<i>Abcc2</i>	3231	<i>Nid1</i>	3301	2900026A02Rik	3371	<i>Slc1a1</i>	3441	1110032A04Rik
3162	<i>Gmeb2</i>	3232	<i>Pcdhgb4</i>	3302	<i>Pign</i>	3372	<i>Hmgn3</i>	3442	<i>Gosr1</i>
3163	<i>Spag9</i>	3233	<i>Cacna1i</i>	3303	<i>Matn2</i>	3373	<i>Gldc</i>	3443	<i>Pmfbp1</i>
3164	<i>Sik</i>	3234	<i>Acsf3</i>	3304	2610020H08Rik	3374	<i>Dnajc13</i>	3444	<i>Osbpl1a</i>
3165	<i>Grid2ip</i>	3235	<i>Osbpl3</i>	3305	<i>Cyp2c55</i>	3375	<i>Apoo</i>	3445	<i>Rftn2</i>
3166	<i>Sult2b1</i>	3236	<i>Blmh</i>	3306	<i>Pcdhga4</i>	3376	<i>Ubash3b</i>	3446	<i>Rnf182</i>
3167	<i>Syde2</i>	3237	<i>Osmr</i>	3307	<i>Rfx4</i>	3377	<i>Ciita</i>	3447	<i>Hsf2bp</i>
3168	<i>Srx4</i>	3238	<i>Slc45a4</i>	3308	<i>Cd101</i>	3378	<i>Enpp3</i>	3448	<i>Epb4.114a</i>
3169	<i>Zmpste24</i>	3239	<i>Nr2c2</i>	3309	<i>Pcdhga5</i>	3379	<i>Pigk</i>	3449	<i>Ccdc53</i>
3170	<i>Ppm1e</i>	3240	<i>Dirc2</i>	3310	<i>Mk11</i>	3380	<i>Dapk1</i>	3450	<i>Fam120a</i>
3171	<i>Epas1</i>	3241	<i>Erp44</i>	3311	<i>Cd6</i>	3381	<i>Ap4e1</i>	3451	<i>Hk1</i>
3172	<i>Sema6a</i>	3242	<i>Ints2</i>	3312	<i>Eth4</i>	3382	<i>Helz</i>	3452	<i>Dzip1l</i>
3173	<i>Cpeb1</i>	3243	<i>Jmy</i>	3313	<i>Smg6</i>	3383	<i>Gng7</i>	3453	<i>Kcnk3</i>
3174	<i>Pxk</i>	3244	<i>Sdc3</i>	3314	<i>Cd302</i>	3384	<i>Parp8</i>	3454	<i>Scaf8</i>
3175	<i>Limd1</i>	3245	<i>Dmx1l</i>	3315	<i>Fam171b</i>	3385	<i>L2hgdh</i>	3455	<i>Rhbdl3</i>
3176	<i>Ehmt1</i>	3246	<i>Ccdc67</i>	3316	<i>Arhgap19</i>	3386	<i>Klib</i>	3456	<i>Stx8</i>
3177	<i>Ryr1</i>	3247	<i>Etd3</i>	3317	<i>Cdk17</i>	3387	<i>Slc25a12</i>	3457	<i>Pja2</i>
3178	<i>Mobkl2b</i>	3248	<i>Hspbap1</i>	3318	<i>Tab3</i>	3388	<i>Pkd112</i>	3458	<i>Aff4</i>
3179	<i>Nedd1</i>	3249	<i>Pcdhga3</i>	3319	<i>Tmod3</i>	3389	<i>Jmjd1c</i>	3459	8430419L09Rik
3180	<i>Pcolce2</i>	3250	<i>Ppp3cc</i>	3320	<i>Mfhas1</i>	3390	<i>Dnahc6</i>	3460	1700025G04Rik
3181	<i>Sun3</i>	3251	<i>Pcdhga8</i>	3321	<i>Dhx36</i>	3391	<i>Vps13d</i>	3461	<i>Tbc1d30</i>
3182	5330417C22Rik	3252	<i>Szt2</i>	3322	<i>Slamf1</i>	3392	<i>Prtg</i>	3462	<i>Card11</i>
3183	<i>Myh11</i>	3253	<i>Mef2a</i>	3323	4931429111Rik	3393	<i>Rad17</i>	3463	<i>Hck</i>
3184	<i>Kctd1</i>	3254	<i>Rcbtb2</i>	3324	<i>Mk12</i>	3394	C030046E11Rik	3464	<i>Gli2</i>
3185	<i>Pcdhga7</i>	3255	<i>Prrc1</i>	3325	<i>Ets1</i>	3395	<i>Snx10</i>	3465	<i>Scn11a</i>
3186	<i>Cd2ap</i>	3256	<i>Gss</i>	3326	<i>Ptpn14</i>	3396	<i>Slc13a4</i>	3466	<i>Plxn2</i>
3187	<i>Nrp2</i>	3257	<i>Rlf</i>	3327	<i>Ptdss1</i>	3397	<i>Cog7</i>	3467	<i>Srrm4</i>
3188	<i>Ino80</i>	3258	<i>Pgm1</i>	3328	<i>Igf1r</i>	3398	<i>Edc3</i>	3468	<i>Abcc3</i>
3189	<i>Ube2cbp</i>	3259	<i>Tspan2</i>	3329	<i>Ercc5</i>	3399	LOC547349	3469	<i>Dixdc1</i>
3190	<i>Gata4</i>	3260	<i>Kdm2a</i>	3330	<i>Wwc1</i>	3400	<i>Cdk11</i>	3470	<i>Actr2</i>
3191	<i>Kitl</i>	3261	<i>Ank</i>	3331	<i>Fmr1nb</i>	3401	<i>Mnat1</i>	3471	<i>Eik3</i>
3192	<i>Eml1</i>	3262	<i>Qk</i>	3332	<i>Mms22l</i>	3402	<i>R3hdm1</i>	3472	<i>Pola1</i>
3193	<i>Prkaa1</i>	3263	<i>Casc4</i>	3333	<i>Spata13</i>	3403	4933432B09Rik	3473	<i>Scara5</i>
3194	<i>Duox1</i>	3264	<i>Kcmf1</i>	3334	<i>Slc38a4</i>	3404	<i>Cntfr</i>	3474	<i>Rnf145</i>
3195	<i>Ndufs1</i>	3265	<i>Phactr4</i>	3335	<i>Dapk2</i>	3405	<i>Iars2</i>	3475	<i>Map3k13</i>
3196	<i>Art3</i>	3266	<i>Npr13</i>	3336	<i>Asb7</i>	3406	D630045J12Rik	3476	<i>Gak</i>
3197	<i>Kcnab2</i>	3267	<i>Gpr156</i>	3337	<i>Plec</i>	3407	<i>Tbc1d9</i>	3477	A930001N09Rik
3198	<i>Sh3bp5</i>	3268	4930555I21Rik	3338	2700078E11Rik	3408	<i>Vps39</i>	3478	<i>Fbxw7</i>
3199	<i>Tmtc3</i>	3269	<i>Ppm1h</i>	3339	<i>Hgsnat</i>	3409	<i>Zdnhc17</i>	3479	<i>Fbln2</i>
3200	<i>Atxn2</i>	3270	<i>Ube2r2</i>	3340	<i>Slc22a4</i>	3410	<i>Ripk2</i>	3480	<i>Ergic1</i>
3201	<i>Cistn1</i>	3271	<i>Slit3</i>	3341	<i>Cenpj</i>	3411	<i>Ccar1</i>	3481	<i>Ccdc109b</i>
3202	<i>Wdr96</i>	3272	<i>Sil1</i>	3342	<i>Amc2</i>	3412	<i>Dhx15</i>	3482	<i>Slc1a7</i>
3203	<i>Radil</i>	3273	<i>Spock1</i>	3343	<i>Mcart6</i>	3413	<i>Ttc7b</i>	3483	<i>Robo1</i>
3204	<i>Thsd1</i>	3274	<i>Podxl</i>	3344	<i>Lct</i>	3414	<i>Gnb1</i>	3484	<i>Anks6</i>
3205	<i>Cdk12</i>	3275	<i>Zfp236</i>	3345	<i>Tmeff1</i>	3415	<i>Pdlim3</i>	3485	<i>Spink13</i>
3206	<i>Crhr1</i>	3276	<i>Pou2f3</i>	3346	<i>Rab13</i>	3416	<i>Gnai1</i>	3486	<i>Fam73a</i>
3207	<i>Xpo7</i>	3277	<i>Kcnab1</i>	3347	<i>Rsf1</i>	3417	<i>Nacc2</i>	3487	<i>Pepd</i>
3208	<i>Dock5</i>	3278	<i>Dfna5</i>	3348	<i>Dcun1d3</i>	3418	<i>Wdr89</i>	3488	<i>Rc3h1</i>
3209	<i>Stx18</i>	3279	<i>Entpd1</i>	3349	<i>Lmtk2</i>	3419	<i>Slc6a5</i>	3489	4933426M11Rik
3210	<i>Vldlr</i>	3280	<i>Ptpn9</i>	3350	<i>PKp2</i>	3420	<i>Syt13</i>	3490	<i>Pawr</i>
3211	<i>Bend5</i>	3281	<i>Ky</i>	3351	<i>Ikzf3</i>	3421	<i>Mtmr7</i>	3491	<i>A darb1</i>
3212	<i>Mei1</i>	3282	<i>Agpat4</i>	3352	<i>Cep63</i>	3422	<i>Slc26a3</i>	3492	D8ErtD82e
3213	<i>Mier1</i>	3283	<i>Rhobtb1</i>	3353	<i>Lrrc1</i>	3423	<i>Bmpr1a</i>	3493	<i>Aldh1l2</i>
3214	<i>Pigu</i>	3284	<i>Pbm1</i>	3354	<i>Fndc3b</i>	3424	<i>Myo6</i>	3494	<i>Wdr93</i>
3215	<i>Ubr3</i>	3285	<i>Pcdhgb5</i>	3355	<i>Txnrd2</i>	3425	<i>Prdm15</i>	3495	1110051M20Rik
3216	<i>Pcdhga9</i>	3286	<i>Tmc5</i>	3356	<i>Tgm5</i>	3426	<i>Chd1</i>	3496	<i>Gmps</i>
3217	<i>MsrA</i>	3287	<i>Sec14I5</i>	3357	<i>Paqr8</i>	3427	<i>Fam129b</i>	3497	<i>Fbxo32</i>
3218	<i>Ibtk</i>	3288	<i>Dtx4</i>	3358	<i>Ccdc81</i>	3428	<i>Filip1l</i>	3498	<i>Phf2</i>
3219	<i>Ptar1</i>	3289	<i>Pcdhga6</i>	3359	<i>Sesn1</i>	3429	<i>Sp100</i>	3499	<i>Wasf3</i>
3220	<i>Col4a1</i>	3290	<i>Vwf</i>	3360	<i>Car12</i>	3430	<i>Timp2</i>	3500	<i>Zbtb46</i>

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I - 3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (11)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
3501	<i>Rspry1</i>	3571	<i>Bin1</i>	3641	<i>Sestd1</i>	3711	<i>Tmcc1</i>	3781	<i>Pacs1</i>
3502	<i>Smg1</i>	3572	<i>Nr2c1</i>	3642	<i>Sspo</i>	3712	<i>Slc25a37</i>	3782	<i>Rala</i>
3503	<i>Sms</i>	3573	<i>Prkch</i>	3643	<i>Vps33a</i>	3713	<i>Heatr5a</i>	3783	<i>Atg4c</i>
3504	<i>Gfod2</i>	3574	<i>Usp40</i>	3644	<i>Mrps9</i>	3714	<i>Rgma</i>	3784	<i>Cacnb4</i>
3505	<i>Slc16a9</i>	3575	<i>Mical2</i>	3645	2900011O08Rik	3715	<i>Zmym4</i>	3785	<i>Ism1</i>
3506	<i>Lmx1a</i>	3576	<i>Acs1</i>	3646	<i>Adora3</i>	3716	<i>Itga11</i>	3786	<i>Gm608</i>
3507	<i>Rtn3</i>	3577	<i>Ddx26b</i>	3647	<i>Prkca</i>	3717	<i>Grik4</i>	3787	<i>Gpc3</i>
3508	<i>Camk2a</i>	3578	<i>Klhl29</i>	3648	<i>Stambpl1</i>	3718	<i>Pcsk6</i>	3788	<i>Psd2</i>
3509	D030016E14Rik	3579	<i>Kat2b</i>	3649	<i>Lats2</i>	3719	<i>Pik3c3</i>	3789	<i>Cdh26</i>
3510	<i>Ankrd28</i>	3580	<i>Lrp8</i>	3650	<i>Hivep2</i>	3720	<i>Mtp</i>	3790	<i>Bmp1</i>
3511	<i>Tapt1</i>	3581	A1480653	3651	<i>Wdr19</i>	3721	<i>Nsmf</i>	3791	<i>Wbscr17</i>
3512	<i>Reck</i>	3582	<i>Trnm33</i>	3652	E230008N13Rik	3722	<i>Ppargc1b</i>	3792	4-Mar
3513	<i>Stam2</i>	3583	<i>Gnai3</i>	3653	<i>Acsbg1</i>	3723	<i>Sacm11</i>	3793	<i>Htt</i>
3514	<i>Bcas3</i>	3584	<i>Arhgap40</i>	3654	<i>Cct6b</i>	3724	<i>Phc3</i>	3794	<i>Zhx3</i>
3515	<i>Tmem150c</i>	3585	<i>Alg6</i>	3655	<i>Spnb1</i>	3725	<i>Tmem132b</i>	3795	<i>Myo1d</i>
3516	<i>Med13</i>	3586	<i>Pitpnm3</i>	3656	<i>Tube2</i>	3726	<i>Slc2a1</i>	3796	<i>Tll2</i>
3517	<i>Strbp</i>	3587	<i>Rgs1f</i>	3657	<i>Tet1</i>	3727	<i>Cspp1</i>	3797	<i>Gigyf2</i>
3518	<i>Trim66</i>	3588	<i>Nek5</i>	3658	<i>Faf1</i>	3728	<i>Tbc1d2b</i>	3798	<i>Synj2</i>
3519	<i>Pvr11</i>	3589	<i>Smad4</i>	3659	<i>Map4k5</i>	3729	<i>Cfi</i>	3799	<i>Rasef</i>
3520	<i>Tmem55a</i>	3590	<i>Fam20b</i>	3660	<i>Elf5</i>	3730	<i>Kirrel3</i>	3800	<i>D6Mm5e</i>
3521	<i>Ephb1</i>	3591	<i>Itpkb</i>	3661	<i>Eefsec</i>	3731	<i>Cnnm1</i>	3801	<i>Rufy3</i>
3522	1500001M20Rik	3592	<i>Lmln</i>	3662	<i>Reep3</i>	3732	<i>Epb4.111</i>	3802	<i>Tbc1d16</i>
3523	<i>Arhgap28</i>	3593	<i>Cacna1b</i>	3663	<i>Camk2b</i>	3733	<i>Cdk15</i>	3803	<i>Src</i>
3524	<i>Sei1f3</i>	3594	<i>Urb1</i>	3664	<i>Xrra1</i>	3734	<i>Dyrk1a</i>	3804	<i>Srx2</i>
3525	<i>Tex11</i>	3595	<i>Ect2l</i>	3665	<i>Atp8b1</i>	3735	<i>Lmbd2</i>	3805	<i>Vps13c</i>
3526	<i>Nrxn2</i>	3596	<i>Ccbe1</i>	3666	<i>Yme1f1</i>	3736	<i>Fam78b</i>	3806	<i>Tref1</i>
3527	<i>Nek9</i>	3597	<i>Capz2</i>	3667	<i>Klhl2</i>	3737	<i>Thbs4</i>	3807	<i>Prpc</i>
3528	BC048546	3598	<i>Steap3</i>	3668	<i>Ros1</i>	3738	<i>Kcnu1</i>	3808	<i>Wnt7a</i>
3529	<i>Nckap1</i>	3599	<i>Ablim3</i>	3669	<i>Erg</i>	3739	<i>Otud7b</i>	3809	<i>Slc12a8</i>
3530	<i>Rev1</i>	3600	<i>Ndrp1</i>	3670	<i>B3gal1</i>	3740	<i>Gng2</i>	3810	<i>Lrp4</i>
3531	<i>Ift140</i>	3601	<i>Sertad2</i>	3671	<i>Rapgef4</i>	3741	<i>Myo7b</i>	3811	<i>Jazf1</i>
3532	<i>Lmnb1</i>	3602	<i>Asb4</i>	3672	<i>Dpy19l3</i>	3742	<i>Tmem131</i>	3812	<i>Wasf1</i>
3533	<i>Dmxl2</i>	3603	<i>Shc3p1</i>	3673	<i>Pax5</i>	3743	<i>Taf3</i>	3813	<i>Rxra</i>
3534	<i>Myo5a</i>	3604	<i>Sez6</i>	3674	<i>Grk5</i>	3744	<i>Gldn</i>	3814	<i>Ptpn12</i>
3535	<i>Ntsr1</i>	3605	<i>Ppm1f</i>	3675	<i>Ctdsp1</i>	3745	<i>Cep350</i>	3815	<i>Erc1</i>
3536	<i>Mih1</i>	3606	<i>Ece1</i>	3676	<i>Rab30</i>	3746	<i>Prkar2a</i>	3816	<i>Cmtm4</i>
3537	<i>Slc30a7</i>	3607	<i>Acer3</i>	3677	<i>Svop</i>	3747	<i>Crtc3</i>	3817	<i>Tet2</i>
3538	<i>St3gal1</i>	3608	<i>Clp2</i>	3678	<i>Ltb2</i>	3748	<i>X99384</i>	3818	<i>Intu</i>
3539	<i>Alg14</i>	3609	4932425124Rik	3679	<i>Il16</i>	3749	<i>Ebf2</i>	3819	<i>Scml4</i>
3540	<i>Tnfrsf11a</i>	3610	<i>Btd1</i>	3680	<i>Lgr5</i>	3750	<i>Adap1</i>	3820	0610007P08Rik
3541	<i>Mll1</i>	3611	<i>Abcc5</i>	3681	<i>Sel1f2</i>	3751	<i>Cd82</i>	3821	<i>Prox1</i>
3542	<i>Gm1661</i>	3612	<i>Onecut2</i>	3682	<i>Wnt2</i>	3752	<i>Dpy19l4</i>	3822	<i>Mtmr1</i>
3543	<i>Hoxd3</i>	3613	<i>Man1a2</i>	3683	<i>Tbx15</i>	3753	<i>Wif1</i>	3823	<i>Rap1a</i>
3544	<i>Itgam</i>	3614	<i>Slc15a1</i>	3684	<i>Scn5a</i>	3754	<i>Lgi1</i>	3824	<i>Zcchc7</i>
3545	<i>Spnb2</i>	3615	<i>Ndfip1</i>	3685	<i>Rap1gap2</i>	3755	<i>Pax3</i>	3825	<i>Gaint10</i>
3546	<i>Ppip5k1</i>	3616	<i>Zfp292</i>	3686	<i>Fit3</i>	3756	<i>Scube1</i>	3826	<i>Fam134b</i>
3547	<i>Dopey2</i>	3617	<i>Ppp6r2</i>	3687	<i>Fam69a</i>	3757	<i>Tln2</i>	3827	<i>Ica1</i>
3548	<i>Stxbp5</i>	3618	<i>Ppp2r3a</i>	3688	<i>Ptpdc1</i>	3758	<i>Sp4</i>	3828	BC049352
3549	<i>Pcnx12</i>	3619	<i>Kcnb1</i>	3689	<i>Pdzd8</i>	3759	<i>Dcps</i>	3829	<i>Bmx</i>
3550	<i>Shq1</i>	3620	<i>Lcor1</i>	3690	<i>Ppa2</i>	3760	2510009E07Rik	3830	<i>Adam2</i>
3551	<i>Frs2</i>	3621	<i>Tmco7</i>	3691	<i>Fsip1</i>	3761	<i>Bmp7</i>	3831	<i>Wdly4</i>
3552	<i>Tpc7</i>	3622	<i>Rap1gap</i>	3692	<i>Itpr3</i>	3762	<i>Vezt</i>	3832	<i>Rab22a</i>
3553	<i>Jph2</i>	3623	<i>Nucb2</i>	3693	<i>Tnn</i>	3763	<i>Kcnd3</i>	3833	<i>Picalm</i>
3554	<i>Pde7a</i>	3624	<i>Kidins220</i>	3694	<i>Mgll1</i>	3764	<i>Dupd1</i>	3834	<i>Slc13a3</i>
3555	<i>Dmbp1</i>	3625	<i>Chd2</i>	3695	<i>Capn3</i>	3765	<i>Mtm1</i>	3835	<i>Fam138</i>
3556	1500009L16Rik	3626	<i>Tnfrsf21</i>	3696	<i>Scnn1b</i>	3766	<i>Usp31</i>	3836	<i>Rbbp8</i>
3557	<i>Unc13a</i>	3627	<i>Metl8</i>	3697	<i>Emid1</i>	3767	<i>Nlrp4e</i>	3837	<i>Dnaic1</i>
3558	<i>Kcnt1</i>	3628	<i>Pla2g5</i>	3698	<i>Jdp2</i>	3768	<i>Kif1a</i>	3838	<i>Arrb1</i>
3559	<i>Cflar</i>	3629	<i>Pdhx</i>	3699	<i>Sobp</i>	3769	<i>Wtf</i>	3839	<i>Barx2</i>
3560	<i>Tmem233</i>	3630	<i>H2afy2</i>	3700	<i>Smad1</i>	3770	<i>Plekha7</i>	3840	<i>Zcchc11</i>
3561	<i>Gdpd5</i>	3631	<i>Smarcc1</i>	3701	<i>Tead4</i>	3771	<i>Lypd1</i>	3841	<i>Fam49b</i>
3562	<i>Spire1</i>	3632	<i>Capn2</i>	3702	<i>Cacna1s</i>	3772	<i>Mylk</i>	3842	<i>Fry</i>
3563	<i>Zfp462</i>	3633	1810041L15Rik	3703	<i>Hunk</i>	3773	A330050F15Rik	3843	<i>Sh3bgr1</i>
3564	<i>Ide</i>	3634	<i>Pank1</i>	3704	<i>Med12l</i>	3774	4931408A02Rik	3844	<i>Sardh</i>
3565	<i>Slc14a1</i>	3635	<i>Arhgef33</i>	3705	9830001H06Rik	3775	<i>Fam129a</i>	3845	<i>Plekha5</i>
3566	<i>Itgb5</i>	3636	<i>Tcf7l2</i>	3706	<i>Rasgef1c</i>	3776	<i>Slc35a3</i>	3846	<i>Glg1</i>
3567	<i>Eif2ak1</i>	3637	<i>Ptchd2</i>	3707	<i>Tmem161b</i>	3777	<i>Cul3</i>	3847	<i>Glis3</i>
3568	<i>Prrc2b</i>	3638	<i>Ptk2b</i>	3708	<i>Gm829</i>	3778	<i>Hip1</i>	3848	<i>Pkp1</i>
3569	<i>Apc</i>	3639	4930590J08Rik	3709	<i>Pig</i>	3779	<i>Ttc23l</i>	3849	<i>Sumf1</i>
3570	<i>Olfml2b</i>	3640	<i>Lemd1</i>	3710	<i>Sctr</i>	3780	<i>Slc5a4b</i>	3850	<i>Dmrt1</i>

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I - 3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧 (12)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
3921	Abhd6	3991	F5	4061	Lmx1b	4131	Lyst	4201	BC052040
3922	Cldn10	3992	Zbtb16	4062	Mctp2	4132	Prex2	4202	Sfmbt2
3923	Shc4	3993	Frm4a	4063	Pter	4133	Sh3pxd2b	4203	Gfra2
3924	Map4k3	3994	Ntn1	4064	Il13ra1	4134	Gpm6b	4204	Hs3st2
3925	Abca17	3995	Hdac7	4065	Pgm5	4135	Syt9	4205	Tbc1d12
3926	A230046K03Rik	3996	Efha1	4066	Rsu1	4136	Itf74	4206	Itk
3927	Frem2	3997	Exoc6	4067	Tex14	4137	Phip	4207	Otof
3928	Bend7	3998	Abcc8	4068	Ly75	4138	Itch	4208	Ikzf1
3929	Osbpl5	3999	Efr3a	4069	Btbd11	4139	Kcns3	4209	Grin3a
3930	Srx14	4000	Smyd1	4070	Kif13a	4140	Wdr27	4210	Atp8a2
3931	Alox5	4001	Bai1	4071	Ccdc33	4141	Odz3	4211	Lrrc8c
3932	Slc17a8	4002	Gpd2	4072	9-Sep	4142	Ebf4	4212	Gpc4
3933	Tanc2	4003	Hmbox1	4073	Stab2	4143	Slc39a8	4213	Enpp2
3934	Spnb4	4004	Zmym2	4074	Tbc1d4	4144	Usp6nl	4214	Rnf13
3935	Vdr	4005	Elmo1	4075	Cttnbp2	4145	Fchs2	4215	Nbeal1
3936	Dennd5b	4006	Ahr	4076	Mtm3	4146	Ythdc2	4216	Nuak1
3937	Usp13	4007	Mras	4077	Slc14a2	4147	Lama3	4217	Egflam
3938	Zdhhc20	4008	Expb5	4078	Lamc2	4148	Tspan12	4218	Mox31
3939	Sitm	4009	Phacr3	4079	Dgki	4149	Myo3b	4219	Abca5
3940	Nphp4	4010	Elov17	4080	Ralgapa2	4150	Rnf144a	4220	Impg2
3941	Cacna2d2	4011	4833403115Rik	4081	Mypr	4151	Fndc1	4221	Tmem63c
3942	Lrp6	4012	Irs1	4082	Cdh13	4152	Kcnn3	4222	Cd99l2
3943	Slc38a1	4013	Efna5	4083	Prrx1	4153	Acan	4223	Tg
3944	Ntrk2	4014	Cpeb4	4084	Gpr45	4154	Pik3r3	4224	Ccdc15
3945	Thada	4015	6230409E13Rik	4085	Mgmt	4155	Igsf21	4225	Kif26b
3946	App	4016	Lpar3	4086	Syt6	4156	Zan	4226	Abhd3
3947	Lass3	4017	Rab6b	4087	Odz4	4157	Phacr2	4227	3632451O06Rik
3948	Mpl1	4018	Trip4	4088	Bcl11b	4158	Adams2	4228	Fam59a
3949	Blink	4019	Scube2	4089	Rhobtb3	4159	Pot1a	4229	Pxdn
3950	Dnahc1	4020	Stx17	4090	Sos2	4160	Mycbp2	4230	Pth2r
3951	Hc	4021	Ptprg	4091	Oxct1	4161	Col12a1	4231	Hipk3
3952	Aox3l1	4022	Khdrbs3	4092	Adck1	4162	Zfp827	4232	Smad6
3953	Smyd4	4023	Stk39	4093	Golim4	4163	Erbp2ip	4233	Scai
3954	Senp7	4024	Dab2ip	4094	Creb3l2	4164	Zfp407	4234	Ccdc73
3955	Susd1	4025	Sidtl	4095	Rnf157	4165	9930021J03Rik	4235	Zfp423
3956	Slit1	4026	Slc27a6	4096	Efha2	4166	Pde8b	4236	0610012H03Rik
3957	Palm2	4027	Samd4	4097	Zfat	4167	Neb	4237	Smoc1
3958	Ndufs4	4028	Hltf	4098	Adams19	4168	Srx13	4238	Pde11a
3959	Rnf130	4029	Lars	4099	Mrc2	4169	Greb1l	4239	Zbtb20
3960	Lnpnp	4030	Gramd3	4100	Ldb3	4170	Lrp2	4240	Abcc9
3961	Wdly1	4031	Slc12a1	4101	Tspan11	4171	Cnih3	4241	Parn
3962	Ddx4	4032	Kcnq2	4102	Cacng3	4172	Tbc1d22a	4242	Slc22a15
3963	Wdr60	4033	Tbxas1	4103	Cimn	4173	Tgfb2	4243	Lmf1
3964	Zswim5	4034	Ebf3	4104	Wdr35	4174	Usp32	4244	Tcf4
3965	Kif15	4035	Arhgef10l	4105	Cap2	4175	Sez6l	4245	St7
3966	1110057K04Rik	4036	Taf4b	4106	Zfyve26	4176	St6galnac5	4246	4930403N07Rik
3967	Ppp3ca	4037	Slco5a1	4107	Dysf	4177	St8sia2	4247	Fam13a
3968	Lrmp	4038	Mecom	4108	Crtac1	4178	Atp10a	4248	Lace1
3969	Slc6a17	4039	Susd4	4109	Shank3	4179	Rbfox3	4249	Dip2a
3970	Dcaf6	4040	Adams14	4110	Thsd4	4180	Dok5	4250	Iqsec3
3971	Naip2	4041	Ano2	4111	Atp2b2	4181	1700028P14Rik	4251	Fam196b
3972	6330403A02Rik	4042	Plekhh2	4112	Slc9a9	4182	Skap2	4252	Ola1
3973	Rin2	4043	Ppapdc1a	4113	C2cd2	4183	Satb2	4253	Cacna1c
3974	Mamdc2	4044	Heph1l	4114	Vav3	4184	Mertk	4254	Cwf19l2
3975	Boc	4045	Pppde1	4115	Gna14	4185	Camk4	4255	Chst8
3976	Fam135a	4046	Fgd5	4116	Hectd2	4186	Cacna1a	4256	Metap1d
3977	Sfxn5	4047	Trpm1	4117	Spon1	4187	St8sia1	4257	Tll17
3978	Wdr78	4048	Mami3	4118	Cachd1	4188	B3gat2	4258	Ankrd55
3979	Svil	4049	Pdgfrl	4119	Nnt	4189	Inpp5f	4259	Itga8
3980	Ppp2r2c	4050	Tbc1d8b	4120	Pde7b	4190	Iqsec2	4260	Xkr6
3981	Tgfa	4051	Tnik	4121	Lekr1	4191	Csmp3	4261	Pion
3982	Ccdc91	4052	Nceh1	4122	Fras1	4192	Lrrk1	4262	Dnajc6
3983	Heat5b	4053	Cdh17	4123	Rhoj	4193	Syn2	4263	Col27a1
3984	Jakmip3	4054	Srx27	4124	Pde2a	4194	Rarb	4264	Adam10
3985	Ncam1	4055	Cdk6	4125	Sergef	4195	Bcl2	4265	Col6a4
3986	Nek6	4056	Ugg2	4126	Ccdc141	4196	Slc5a11	4266	Rai2
3987	Itgav	4057	Elf1	4127	Prkar1b	4197	Adams17	4267	Adams9
3988	Tmem178	4058	Phldb2	4128	Kcnip3	4198	Hecw2	4268	Trpm8
3989	Btbd16	4059	Wdr63	4129	Vtcn1	4199	Dpf3	4269	Kcnj6
3990	Rev3l	4060	Pik3ap1	4130	Edem3	4200	Cdh22	4270	Cacng2

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

表 I -3.1細胞期胚において転写される遺伝子一覧(13)

順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol	順位	symbol
4271	<i>Prkce</i>	4341	<i>Hrh1</i>	4411	<i>Fam19a5</i>	4481	<i>Cdh6</i>	4551	<i>Adarb2</i>
4272	<i>Rapgef2</i>	4342	<i>Apbb1ip</i>	4412	<i>Usp25</i>	4482	<i>Sv2b</i>	4552	<i>Phex</i>
4273	<i>Adam9</i>	4343	<i>Stim1</i>	4413	<i>Pax7</i>	4483	<i>Cwc27</i>	4553	<i>Slc4a4</i>
4274	<i>Fbn2</i>	4344	<i>Fam171a1</i>	4414	<i>Frem1</i>	4484	<i>Ahi1</i>	4554	<i>Hmcn1</i>
4275	<i>Rad51l1</i>	4345	<i>Ccny</i>	4415	<i>Alpk1</i>	4485	<i>Stag1</i>	4555	<i>Nell2</i>
4276	<i>Capn8</i>	4346	<i>Cpped1</i>	4416	<i>Odz2</i>	4486	<i>Col24a1</i>	4556	<i>Ptprk</i>
4277	<i>Spink10</i>	4347	<i>E2f3</i>	4417	<i>Daam2</i>	4487	<i>Fgy</i>	4557	<i>Col19a1</i>
4278	<i>Tb11x</i>	4348	<i>Trim44</i>	4418	<i>Atp11c</i>	4488	<i>Ugt1a10</i>	4558	<i>Amph</i>
4279	<i>Mbnl3</i>	4349	<i>Rbms1</i>	4419	<i>Wdr7</i>	4489	<i>Dnahc5</i>	4559	<i>Cpne4</i>
4280	<i>Arhgef6</i>	4350	<i>Myocd</i>	4420	<i>Fli1</i>	4490	<i>Apba2</i>	4560	<i>Skint6</i>
4281	<i>Sik3</i>	4351	<i>Kirrel</i>	4421	<i>Myh15</i>	4491	<i>Scaper</i>	4561	<i>Ccdc46</i>
4282	<i>Dync11f</i>	4352	<i>Rgs7bp</i>	4422	<i>Brwd3</i>	4492	<i>Ugt1a9</i>	4562	<i>Nav3</i>
4283	<i>Galnt4</i>	4353	<i>Bsn</i>	4423	<i>Pacrg</i>	4493	<i>Rgs6</i>	4563	<i>Adcy2</i>
4284	<i>Cdc14a</i>	4354	<i>Myo18b</i>	4424	<i>Ctsp2</i>	4494	<i>Usp9y</i>	4564	<i>Slc8a1</i>
4285	<i>Nos1ap</i>	4355	<i>Mybpc1</i>	4425	<i>Ubr1</i>	4495	<i>Nubpl</i>	4565	<i>Nxph1</i>
4286	<i>Myt1l</i>	4356	<i>Evc2</i>	4426	<i>Nek10</i>	4496	<i>Cdk14</i>	4566	<i>Rasgrf2</i>
4287	<i>Dclk1</i>	4357	<i>Acaca</i>	4427	<i>Rock1</i>	4497	<i>Rgs22</i>	4567	<i>Fgf12</i>
4288	<i>Fam114a1</i>	4358	<i>Thrb</i>	4428	<i>Wdr64</i>	4498	<i>Rnf150</i>	4568	<i>Lphn3</i>
4289	<i>Frk</i>	4359	<i>Slc10a7</i>	4429	<i>9930013L23Rik</i>	4499	<i>Bbx</i>	4569	<i>Diap2</i>
4290	<i>Gpr116</i>	4360	<i>Vcan</i>	4430	<i>Syn3</i>	4500	<i>Gpr39</i>	4570	<i>Il1rapl2</i>
4291	<i>Mpped2</i>	4361	<i>Gnao1</i>	4431	<i>Synpo2</i>	4501	<i>Ikzf2</i>	4571	<i>Gpc6</i>
4292	<i>Fam5b</i>	4362	<i>Efcab2</i>	4432	<i>Ric8b</i>	4502	<i>St8sia6</i>	4572	<i>Cpa6</i>
4293	<i>Hspg2</i>	4363	<i>Bckdhb</i>	4433	<i>Ajap1</i>	4503	<i>Adam22</i>	4573	<i>Sox6</i>
4294	<i>Pebp4</i>	4364	<i>Arhgap25</i>	4434	<i>Sdk2</i>	4504	<i>Ctnd2</i>	4574	<i>Lrrc7</i>
4295	<i>Specc1</i>	4365	<i>Ddc</i>	4435	<i>Cacna1e</i>	4505	<i>Pcdha10</i>	4575	<i>1700007B14Rik</i>
4296	<i>Bcl11a</i>	4366	<i>Nhs</i>	4436	<i>Slit2</i>	4506	<i>Mbnl1</i>		
4297	<i>Nrg2</i>	4367	<i>Mamld1</i>	4437	<i>Hibadh</i>	4507	<i>Galnt14</i>		
4298	<i>Col15a1</i>	4368	<i>Shroom2</i>	4438	<i>Srgap3</i>	4508	<i>Ltbp1</i>		
4299	<i>Col5a1</i>	4369	<i>Rgs17</i>	4439	<i>Bmper</i>	4509	<i>Kcnq3</i>		
4300	<i>Zfp536</i>	4370	<i>Gxyt2</i>	4440	<i>Grik3</i>	4510	<i>Plcl1</i>		
4301	<i>Tns1</i>	4371	<i>Sorcs3</i>	4441	<i>Syt14</i>	4511	<i>Nell1</i>		
4302	<i>Atp6v0a2</i>	4372	<i>Tasp1</i>	4442	<i>Magi3</i>	4512	<i>Lphn2</i>		
4303	<i>Gab2</i>	4373	<i>Itgb6</i>	4443	<i>Snx24</i>	4513	<i>Alk</i>		
4304	<i>Rab3c</i>	4374	<i>Car8</i>	4444	<i>Fert2</i>	4514	<i>Ube2e2</i>		
4305	<i>Ccdc132</i>	4375	<i>Gli3</i>	4445	<i>1700011I03Rik</i>	4515	<i>Pcdha9</i>		
4306	<i>Epm2a</i>	4376	<i>Ash1l</i>	4446	<i>Kcnk10</i>	4516	<i>Pcdha12</i>		
4307	<i>Trpm6</i>	4377	<i>Slc8a3</i>	4447	<i>Unc79</i>	4517	<i>Cdh20</i>		
4308	<i>Sim1</i>	4378	<i>Wm</i>	4448	<i>Fam172a</i>	4518	<i>Pcdha8</i>		
4309	<i>Nfib</i>	4379	<i>Trim9</i>	4449	<i>Dis3l2</i>	4519	<i>Pcdha11</i>		
4310	<i>Actr3b</i>	4380	<i>Nek11</i>	4450	<i>Pla2r1</i>	4520	<i>Col14a1</i>		
4311	<i>Elp4</i>	4381	<i>Adrbk2</i>	4451	<i>Cerkl</i>	4521	<i>Csmd1</i>		
4312	<i>Abca1</i>	4382	<i>Grin2b</i>	4452	<i>Lrtn2</i>	4522	<i>Ccdc148</i>		
4313	<i>Npepps</i>	4383	<i>Cdy12</i>	4453	<i>Fgd4</i>	4523	<i>Tll1</i>		
4314	<i>Kif6</i>	4384	<i>Rgs20</i>	4454	<i>Synpr</i>	4524	<i>Pcdha6</i>		
4315	<i>Arid4b</i>	4385	<i>Creb5</i>	4455	<i>Col22a1</i>	4525	<i>Svep1</i>		
4316	<i>Cdk13</i>	4386	<i>Met</i>	4456	<i>Setbp1</i>	4526	<i>Tcerg1l</i>		
4317	<i>Slc24a4</i>	4387	<i>Enpp6</i>	4457	<i>Sbf2</i>	4527	<i>Impg1</i>		
4318	<i>Cacna2d4</i>	4388	<i>Fbn1</i>	4458	<i>Stk32a</i>	4528	<i>Pcdha7</i>		
4319	<i>Gm12824</i>	4389	<i>9030617O03Rik</i>	4459	<i>Dennd1b</i>	4529	<i>Cistn2</i>		
4320	<i>Mark1</i>	4390	<i>Pex5l</i>	4460	<i>Corin</i>	4530	<i>Slc25a21</i>		
4321	<i>Dock11</i>	4391	<i>Nfia</i>	4461	<i>Zfp438</i>	4531	<i>Ldb2</i>		
4322	<i>Rnf152</i>	4392	<i>Mboat1</i>	4462	<i>Arhgap24</i>	4532	<i>Pcdha4</i>		
4323	<i>Insr</i>	4393	<i>Cpne8</i>	4463	<i>Adam23</i>	4533	<i>Pcdha5</i>		
4324	<i>Parva</i>	4394	<i>Adam12</i>	4464	<i>Prkdc</i>	4534	<i>Ebf1</i>		
4325	<i>Tmem163</i>	4395	<i>Sox5</i>	4465	<i>Slc6a11</i>	4535	<i>Pcdha3</i>		
4326	<i>Rps6ka3</i>	4396	<i>Irf2</i>	4466	<i>Oxr1</i>	4536	<i>Tnr</i>		
4327	<i>Zswim6</i>	4397	<i>Pappa2</i>	4467	<i>Shisa9</i>	4537	<i>Pcdha2</i>		
4328	<i>Filip1</i>	4398	<i>Asah2</i>	4468	<i>Meis1</i>	4538	<i>Fam163a</i>		
4329	<i>Hibch</i>	4399	<i>Ccdc146</i>	4469	<i>Clnk</i>	4539	<i>Adamts13</i>		
4330	<i>Akap6</i>	4400	<i>Pbx3</i>	4470	<i>Adamts6</i>	4540	<i>Pcdha1</i>		
4331	<i>Enthd1</i>	4401	<i>Slc1a2</i>	4471	<i>Fam110b</i>	4541	<i>Cubn</i>		
4332	<i>Prkcb</i>	4402	<i>Aox3</i>	4472	<i>Amt2</i>	4542	<i>E130309F12Rik</i>		
4333	<i>Dock2</i>	4403	<i>Dpy19l2</i>	4473	<i>Tacr1</i>	4543	<i>4921528I01Rik</i>		
4334	<i>Syne1</i>	4404	<i>Cep290</i>	4474	<i>Adamts20</i>	4544	<i>Kctd8</i>		
4335	<i>Chm3</i>	4405	<i>Adamts12</i>	4475	<i>Unc5d</i>	4545	<i>Sim2</i>		
4336	<i>Pou2f1</i>	4406	<i>Gstcd</i>	4476	<i>Xylt1</i>	4546	<i>Ntrk3</i>		
4337	<i>Fam184a</i>	4407	<i>A430107O13Rik</i>	4477	<i>Accn1</i>	4547	<i>Gria1</i>		
4338	<i>D5Erttd579e</i>	4408	<i>4930534B04Rik</i>	4478	<i>Col4a4</i>	4548	<i>Rcan2</i>		
4339	<i>Wdr44</i>	4409	<i>D430041D05Rik</i>	4479	<i>1700040L02Rik</i>	4549	<i>Gabrb2</i>		
4340	<i>Dlgap1</i>	4410	<i>Phlpp1</i>	4480	<i>Pknox2</i>	4550	<i>Pappa</i>		

イントロンのRPKM値の大きい順で表示している。

第二章

1 細胞期胚における遺伝子発現の特徴解析

緒言

生体を構成する細胞は、主に細胞の生命活動の維持に必要なハウスキーピング遺伝子の他に、組織特異的な機能に必要となる組織特異的な遺伝子を発現することで、その細胞に特有の性質が与えられる (Lin et al, 2014)。受精前の卵母細胞もまた、そこで特異的に発現している遺伝子により卵母細胞特有の性質を示す。例えば、雌マウスの受胎能獲得に重要な *Growth differentiation factor 9 (Gdf9)* は、成長期卵で高レベルに発現しており (Yan et al, 2006)、*Gdf9* の発現を抑制すると卵胞形成不全に陥り、雌マウスは不妊になる (Dong et al, 1996)。第二減数分裂の開始に重要な *c-mos* もまた成長期卵で高レベルに発現しており、*c-mos* の発現を抑制すると、卵成熟過程の始まりに見られる卵核胞崩壊 (Germinal Vesicle BreakDown; GVBD) 後の MAP キナーゼ活性の増加が見られず maturation promoting factor (MPF) の活性化が見られなくなる。その結果、紡錘体形成および染色体凝集に異常が見られるようになる (Araki et al, 1996)。また、受精後の 2 細胞期では後期に母性因子のほとんどが分解され、受精前とはタンパク質の合成パターンが大きく変化しており、2 細胞期胚特異的な遺伝子発現パターンを形成している (Alizadeh et al, 2005; Flach et al, 1982)。2 細胞期胚特異的に発現している遺伝子に *zinc finger and SCAN domain containing 4d (Zscan4d)* がある (Falco et al, 2007)。shRNA を 1 細胞期胚の雄性前核にマイクロインジェクションを行い 2 細胞期胚における *Zscan4d* の発現を抑制したとき、多くの 2 細胞期胚の 4 細胞期胚への発生が遅延し、胚盤胞に到達しても胚盤腔の拡張や、その後の胚の透明帯からの脱出 (hatching) が起こらなくなり、機能的な胚盤胞を形成できなくなる。このように、受精前後の卵および初期胚において、各々の発生時期に形成される遺伝子発現パターンは、以降の発生を正確に進行させるために必要となる。一方、1 細胞期では、主にこの

時期におこる minor ZGA を阻害すると発生が進行しなくなるため、1 細胞期胚の遺伝子発現もまた初期胚発生に重要な役割を担っていると考えられる。しかしながら、これまで 1 細胞期に転写される遺伝子についてはほとんど特定されておらず、1 細胞期胚の遺伝子発現パターンを解析するための情報が圧倒的に不足していた。

第一章では、1 細胞期胚ではスプライシング機構が十分に働いておらず、1 細胞期に合成される転写産物はイントロンを含んだままであることが明らかになった。そして、イントロンの発現量に着目することで、1 細胞期に転写される遺伝子を数多く特定し、1 細胞期胚の遺伝子発現を解析するための重要な情報を得ることに成功した。そこで、本章では 1 細胞期胚における遺伝子発現の特徴を明らかにするために、第 1 章で明らかにした 1 細胞期胚で転写される遺伝子セットを未受精卵、1 細胞期胚以外の着床前初期胚そして複数の組織細胞で発現する遺伝子セットと比較することで、1 細胞期胚における遺伝子発現パターンの特徴を明らかにすることを試みた。

結果

1 細胞期で転写される遺伝子の特徴解析に用いるリストの作成

遺伝子発現の特徴を解析するために、各々の細胞で RPKM 値が高い上位 2000 個の遺伝子をリストアップし、これらを高発現している遺伝子リストとして解析に使用した。RPKM 値の高い上位 2000 個の遺伝子のみを使用する理由として、次のことが挙げられる。一般的に、RNA-seq より得られたトランスクリプトームデータを用いて遺伝子発現パターンを解析する際、RPKM 値を用いる。RPKM 値は、実験でマッピングされた総リード数に対する個々の遺伝子のエクソンにマッピングされたリード数の割合を求め、mRNA の長さで補正した相対値である (Mortazavi et al, 2008)。しかしながら、着床前初期胚では、発生時期ごとに細胞内 mRNA 総量が異なるため、このような RPKM 値を用いた比較を行うことは困難である (Piko & Clegg, 1982)。例えば、マウス 2 細胞期胚および胚盤胞における mRNA 総量はそれぞれ 0.26 pg/embryo および 1.42 pg/embryo であり、これらの胚の間ではおよそ 6 倍の差が生じる。したがって、このように RNA 量が大きく異なる細胞同士の共通項として「細胞内で発現量の高い上位 2000 遺伝子」を用いることにした。

そして、このような上位 2000 遺伝子のリストが、個々の細胞の特徴を十分に表すことができているかどうかを以下の様にして解析した。すなわち、ToppGene サイトにおいて、リストに含まれる上位 2000 個の遺伝子をそれぞれ機能欠損させた場合に高頻度に観察される表現型を調べた。8 種類の組織細胞を用いて解析を行った結果、何れの組織においても、高頻度に観察される上位 3 つの表現型はほとんどがその組織特有のものであった (表 II-1)。例えば、大脳皮質 (cortex) で高発現している上位 2000 個の遺伝子それぞれを欠損させた場合、高頻度に見られた表現型は「abnormal synaptic

transmission]、「abnormal CNS synaptic transmission」そして「abnormal nervous system physiology」であり、何れも大脳皮質に関連していることが明白である。したがって、遺伝子発現パターンの解析において個々の細胞の特徴を掴むためには、高発現している上位 2000 個の遺伝子を用いるだけで十分であることが示され、これらを以降の特徴解析に用いることとした。

1 細胞期胚における遺伝子発現パターンの特徴解析

1 細胞期胚における遺伝子発現パターンを特徴付けるために、階層的クラスタ解析により、未受精卵である MII 期卵、1 細胞期胚を含む着床前初期胚そして 12 種類の組織細胞の遺伝子発現パターンを分類した。個々の細胞種で高発現している遺伝子リストの類似性を比較した結果、大きく三つのクラスターに分類することができた (図 II-1)。一つが組織細胞で構成されるクラスターであり、二つ目が MII 期卵および 1 細胞期胚を除く着床前初期胚で構成されるクラスターであり、三つ目が 1 細胞期胚のみで構成されるクラスターである。また、この系統樹における Height は「1-相関係数」を示している。相関係数は類似しているほど値が 1 に近づき、類似していないほど -1 に近づく。よって、1 から相関係数を引いたとき、類似しているほど Height は 0 に近づき、類似していないほど 2 に近づく。例えば、大腸と十二指腸は遺伝子発現パターンが非常に似ているため相関係数が大きく、1 から相関係数を引くと、Height の値はおおよそ 0.3 となり 0 に非常に近くなる。独立したクラスターを形成する 1 細胞期胚は、残りの二つのクラスターと比較して Height の値が大きい。これは、1 細胞期胚と他の細胞種との遺伝子発現パターンの類似性が低いことを示している。以上より、1 細胞期胚は他の細胞種と比較して非常に特殊な遺伝子発現パターンを示すことが示唆された。

1 細胞期胚の特異的遺伝子発現パターンを形成する要因解析

1 細胞期胚が特殊な遺伝子発現パターンを示す理由として、次の 2 つが考えら

れる。まず1つ目は、他の種類の細胞では発現量が低いかあるいはまったく発現していないような遺伝子が1細胞期胚では高発現しているという可能性である。そして2つ目は、他の種類の細胞で共通して高発現している遺伝子が、1細胞期では高発現していないというものである。

まず、1つ目の可能性を調べるために、MII期卵および1細胞期胚を含む着床前初期胚のそれぞれにおいて、その細胞でのみ特異的に高発現している遺伝子の割合を調べた(図 II-2A)。その結果、上位2000遺伝子に含まれる特異的遺伝子の割合は、MII期卵では26%、1細胞期胚以外での着床前初期胚では10%程度であった。一方で、1細胞期胚においては52%を占めていた。また、同様に1細胞期胚と8種類の組織細胞間の比較を行ったところ、8種類の組織細胞で特異的に高発現している遺伝子の割合は10~20%程度である一方で、1細胞期胚では59%を占めていた(図 II-2B)。したがって、1細胞期胚では、他の種類の細胞では発現量が低い、もしくは発現していない遺伝子が比較的多く高発現しており、これが特殊な遺伝子発現パターンを形成することに貢献していることが示唆された。

次に、1細胞期胚が特殊な遺伝子発現パターンを形成するもう一つの理由として考えられる、他の種類の細胞で共通して高発現している遺伝子が1細胞期では高発現していない、という可能性についての検討を行った。MII期卵、1細胞期胚を含む着床前初期胚そして12種類の組織細胞において、それぞれ上位2000個の遺伝子リストに含まれるハウスキーピング遺伝子を各細胞で「高発現しているハウスキーピング遺伝子」としてリストアップした。さらにその中で、MII期卵、着床前初期胚そして12種類の組織細胞を含む合計18種類の細胞の内、80%以上にあたる14種類以上の細胞のリストに共通して含まれている遺伝子を「共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子」と定義した。そして、各細胞種において「高発現しているハウスキーピング遺伝子」中に占める「共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子」の割合を算出した(図 II-3)。その結果、2細胞期胚以降の着床前初期胚および個々の組織細胞では、高発現し

ているハウスキーピング遺伝子の 80%以上が共通して高発現しているものであった。また、MII 期卵では共通して高発現しているものが 62%を占めており、2 細胞期胚では 42%であった。しかしながら、1 細胞期胚において、共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合はわずか 28%であった。したがって、1 細胞期胚では、他の種類の細胞で高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合が少なく、これも 1 細胞期胚における特殊な遺伝子発現パターンを形成することに貢献していることが示唆された。

1 細胞期胚における RPKM 値の多様性の解析

1 細胞期胚ではエンハンサー非依存的な転写制御機構が働いていることから (Majumder et al, 1993; Wiekowski et al, 1991)、個々の遺伝子はエンハンサーによる転写促進を受けていないことが考えられる。その結果、1 細胞期胚では、他の細胞で見られるような極端に高い発現レベルを示す遺伝子は存在せず、全体として均質化したレベルの発現パターンとなっていることが推察された。これを確認するために、卵、着床前初期胚そして複数の組織細胞それぞれにおいて高発現している遺伝子の RPKM 値の幅を、バイオリンプロットを作成することで比較した (図 II-4)。その結果、1 細胞期胚においてその幅は最も狭く、発生の進行と共に広がっていくことが示された。したがって、1 細胞期胚のユニークな遺伝子発現パターンは、エンハンサー非依存的な転写制御機構により個々の遺伝子の転写活性が互いに近いレベルにあるために生じている可能性が示された。

考察

本章では、1 細胞期に転写される多くの遺伝子を用いて遺伝子発現パターンの解析を行うことを目的とした。そして、個々の細胞の特徴を示すには、高発現している上位 2000 個の遺伝子を用いるだけで十分であることが示され、MII 期卵、1 細胞期胚以降の着床前初期胚そして複数の組織細胞においてこれらのリストの類似性を比較したところ、1 細胞期胚は独立したクラスターを形成し、非常にユニークな遺伝子発現パターンを示すことが明らかになった。

1 細胞期胚がユニークな遺伝子発現パターンを形成する理由として、遺伝子発現の制御に関わるクロマチン構造やエピジェネティック因子が 1 細胞期胚ではその他の種類の細胞とは大きく異なっていることが考えられる。まず、クロマチン構造に関してであるが、通常、活発に発現している遺伝子の領域は緩んだユークロマチン構造をとることが知られている (Gaspar-Maia et al, 2011)。そして、蛍光タンパク質で標識したコアヒストンの置換速度を解析することで、クロマチンの緩みを定量的に評価することができる Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) 法により、1 細胞期胚は他の着床前初期胚および ES 細胞と比較して最もクロマチン構造が緩いことが近年明らかにされた (Hashimoto, 2014; Ooga et al, 2016 in press)。ES 細胞は、これを分化誘導した細胞よりもクロマチン構造が緩んでいることが報告されていることから (Meshorer et al, 2006; Schaniuel et al, 2009)、1 細胞期胚では他のどの細胞よりも極端に緩んだクロマチン構造となっているものと考えられる。

また、1 細胞期胚ではヌクレオソームのコアヒストンを構成するヒストン変異体の種類に偏りがあることが知られている。コアヒストンは、ヒストン H2A、H2B、H3 そして H4 がそれぞれ 2 分子ずつ集まり、8 量体として構成される。そしてヒスト

ン H2A には、H2A、H2A.X、H2A.Z、macroH2A など様々な変異体が存在し、それぞれが特異的に遺伝子発現の調節に重要な役割を果たしている。例えば、H2A.Z は遺伝子発現の活性化に関与し (Meneghini et al, 2003; Yukawa et al, 2014)、macroH2A はその反対にヘテロクロマチンを主とした遺伝子発現が不活化した領域のヌクレオソームに多く含まれ (Changolkar et al, 2010)、遺伝子の不活化に関与することが示唆されている (Angelov et al, 2003)。ところが、1 細胞期胚では、これらのうち H2A.Z および macroH2A は核内にまったく検出されず、H2A が低いレベルで、そして H2A.X のみが高レベルで検出される (Nashun et al, 2010)。また、ヒストン H3.3 にも主として H3.1、H3.2 そして H3.3 の 3 種類の変異体が存在する (Pusarla & Bhargava, 2005)。H3.3 は転写が活発な領域に、H3.1 および H3.2 は不活化領域に多く検出される (Mito et al, 2005; Yukawa et al, 2014)。これらのうち H3.1 は 1 細胞期胚では核内に存在しない (Akiyama et al, 2011; Kawamura et al, 2012)。このように、ヌクレオソームを形成するヒストン H2A と H3 に関しては、1 細胞期胚は H2A.X/H3.3 の組み合わせが大部分を占めるという非常にユニークな構成となっている。

さらに、エピジェネティック修飾に関しても、1 細胞期胚では他の細胞に見られないユニークな特徴がある。まず、遺伝子の不活化に関与する DNA のメチル化が受精後に雄性前核から急速に消失することが知られている (Mayer et al, 2000)。また、ヘテロクロマチンの形成に関与していると考えられている H3K9me2 が雄性前核にまったく検出されないことが報告されている (Liu et al, 2004)。

以上のように、1 細胞期胚のクロマチン構造やエピジェネティック因子は他の種類の細胞に見られない様々な特徴を有しており、これらが遺伝子発現の調節に関わって 1 細胞期特有の発現パターンを形成していることが考えられる。

図 II -1

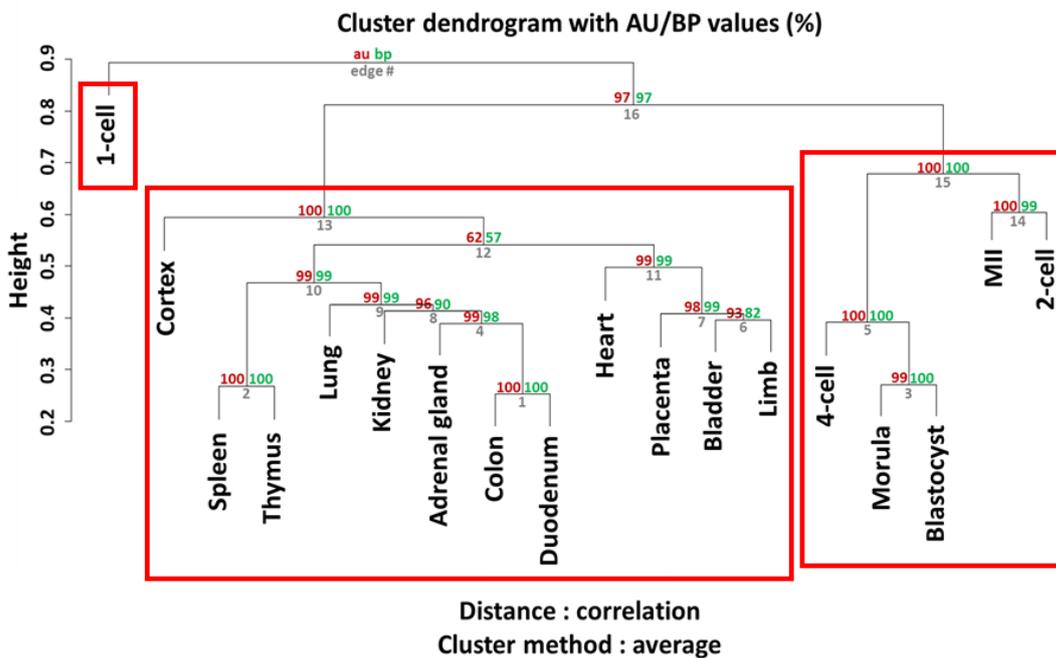


図 II -1. MII期卵、着床前初期胚そして12種類の組織における遺伝子発現パターンの階層的クラスタリング

MII期卵 (MII)、着床前初期胚 (1-, 2-, 4-cell, Morula, Blastocyst) そして12種類の組織細胞の遺伝子発現パターンの類似性を、統計解析ソフトウェアRのアドオンパッケージであるpvclustによって解析した。それぞれの細胞種において、発現量の高い上位2000遺伝子を高発現している遺伝子と定義した。解析の際、全遺伝子のうち高発現している上位2000遺伝子については1を付加し、それ以外は0を付加して各細胞種間の類似性を比較した。au (赤) はapproximately unbiased (AU) p -valuesを示し、bp (緑) はbootstrap probability (BP) valuesを示す。また、クラスターナンバーはグレーで示し、大別される3つのクラスターを赤枠で示す。

図 II -2

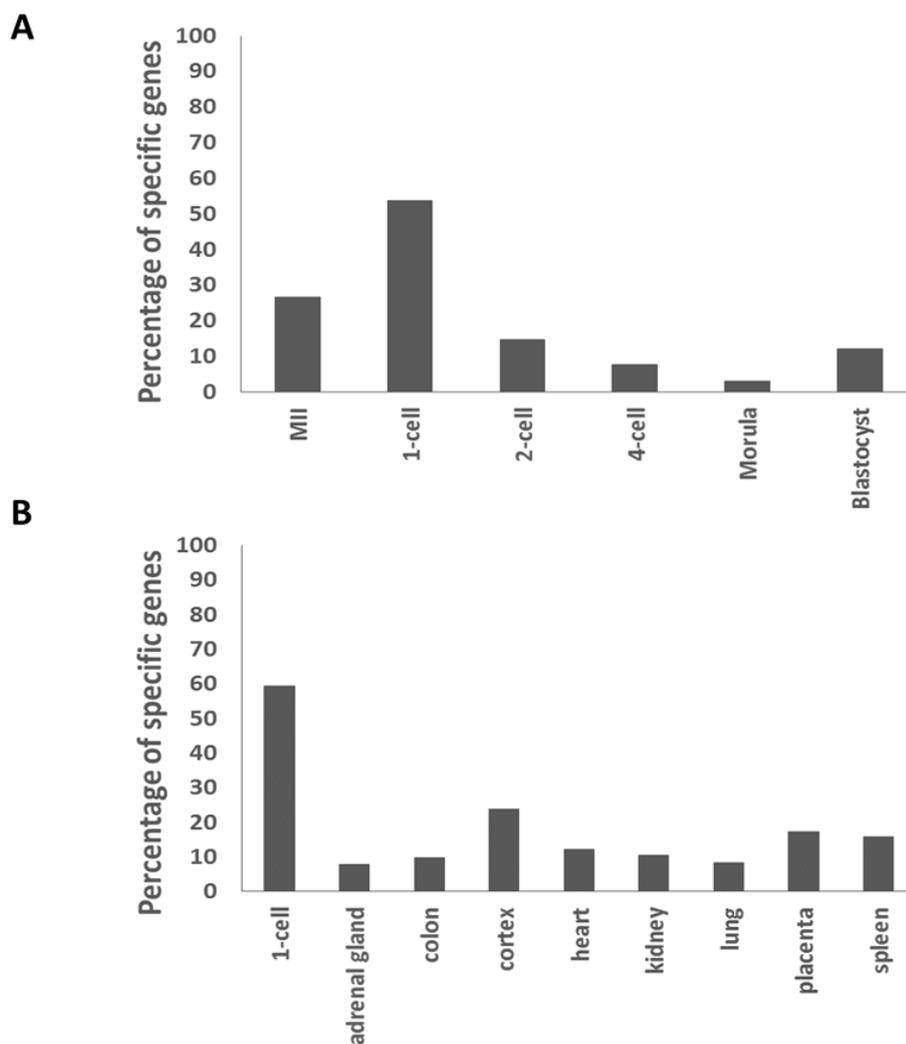


図 II -2. 特異的発現遺伝子数の比較

A) MII期卵 (MIII) および着床前初期胚 (1-, 2-, 4-cell, Morula, Blastocyst) それぞれで特異的に高発現している遺伝子の割合を比較した。B) 1細胞期胚および8種類の組織それぞれで特異的に高発現している遺伝子の割合を比較した。

図 II -3

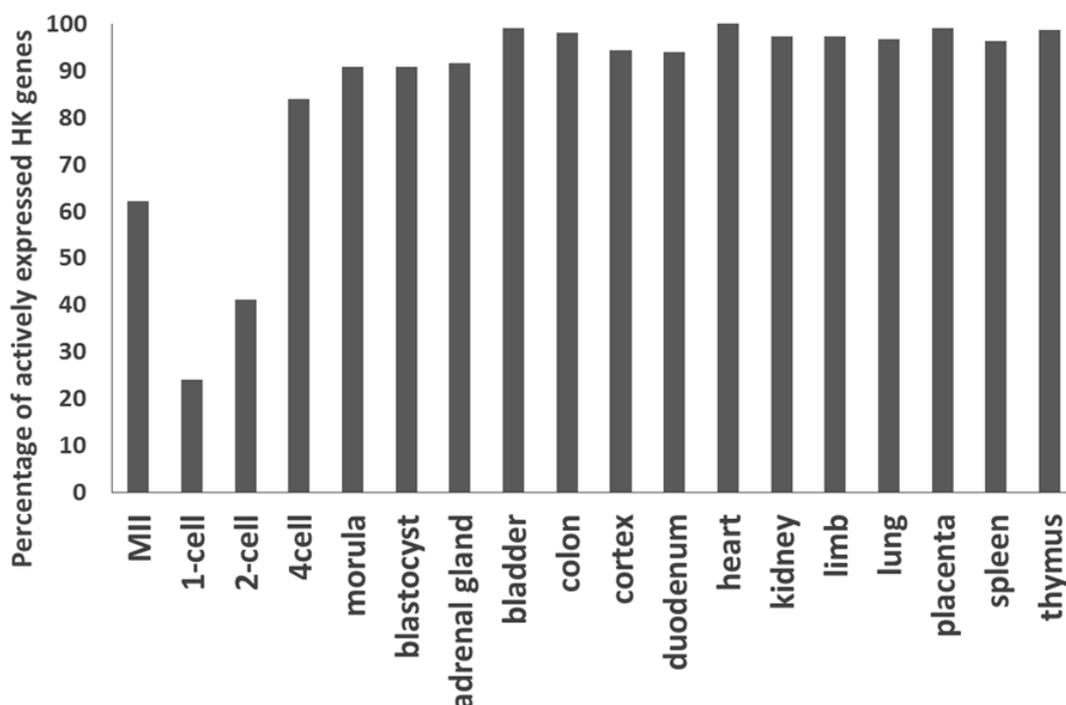


図 II -3高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合の比較

まず、MII期卵 (MII)、着床前初期胚 (1-, 2-, 4-cell, Morula, Blastocyst) そして複数の組織細胞のそれぞれで上位2000遺伝子に含まれるものを「高発現している遺伝子」と定義した。次いで、ハウスキーピング遺伝子の中で、80%以上の細胞で共通して高発現しているもの (218遺伝子) を「共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子」とした。縦軸は、「共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子」のうち各々の細胞で実際に高発現している遺伝子の割合を示す。

図 II -4

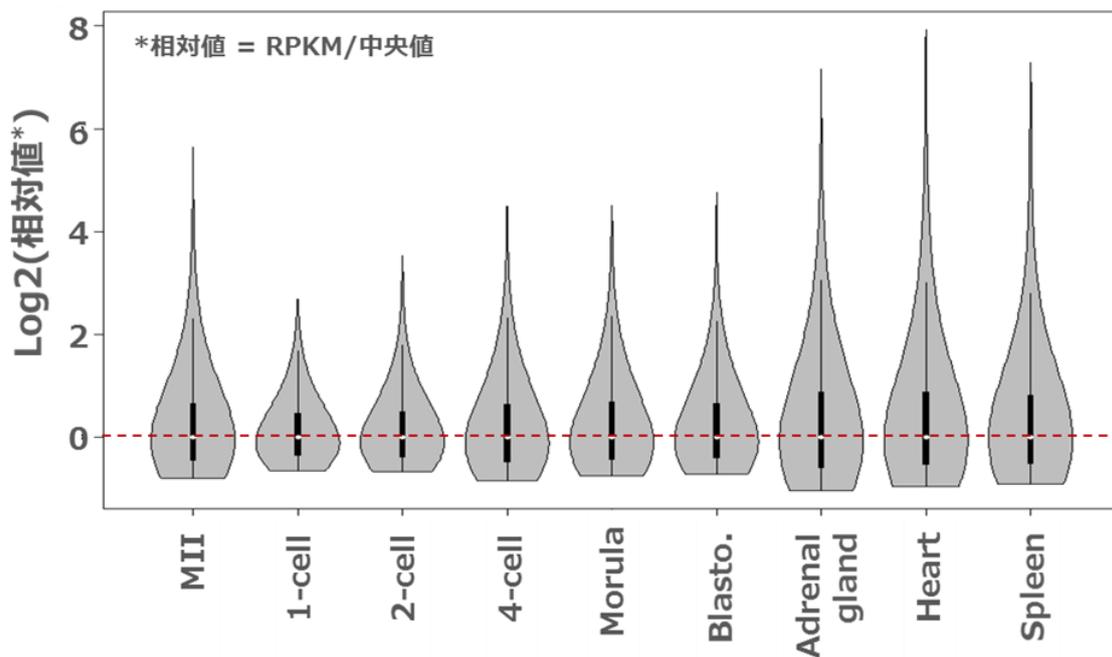


図 II -4. MII期卵、着床前初期胚そして組織細胞において高発現している遺伝子の発現量に関するバイオリンプロット

MII期卵 (MII)、着床前初期胚 (1-, 2-, 4-cell, Morula, Blastocyst) そして3種類の組織細胞において、RPKM値の高い上位2000遺伝子それぞれのRPKM値のばらつきをバイオリンプロットで示した。相対値は、個々の遺伝子のRPKM値を上位2000遺伝子のRPKM値の中央値で割った値を示しており、縦軸は相対値に底を2とした対数をとっている。上端および下端は、RPKM値の高い上位2000遺伝子の上位および下位5%の遺伝子をそれぞれ除いた遺伝子リストにおける最大値および最小値を示す。破線 (赤) は縦軸が0 (即ち、中央値に最も近い値) を示している。各プロットの横幅は各相対値をとる遺伝子の数を示している。

表 II -1. 各組織細胞で高発現している遺伝子を欠損した際に高頻度に観察される表現型

Tissue	Phenotype	P-value [*]	Associated phenotype ^{**}
Adrenal gland	abnormal aldosterone level	2.31E-05	○
	abnormal adrenal cortex morphology	2.95E-05	○
	abnormal thoracic cage morphology	3.94E-05	×
Colon	abnormal intestinal epithelium morphology	9.57E-07	○
	abnormal exocrine gland morphology	1.19E-06	×
	abnormal crypts of Lieberkuhn morphology	3.86E-06	○
Cortex	abnormal synaptic transmission	3.29E-35	○
	abnormal CNS synaptic transmission	4.44E-34	○
	abnormal nervous system physiology	2.85E-30	○
Heart	abnormal muscle fiber morphology	3.99E-18	○
	abnormal muscle physiology	1.01E-13	○
	abnormal cardiac muscle contractility	4.13E-12	○
Kidney	abnormal urine homeostasis	7.97E-22	○
	abnormal renal/urinary system physiology	3.42E-21	○
	renal/urinary system phenotype	4.39E-18	○
Lung	abnormal blood vessel morphology	1.03E-08	×
	abnormal developmental vascular remodeling	6.16E-08	○
	abnormal lung morphology	1.01E-07	○
Placenta	prenatal lethality	2.98E-08	○
	embryonic lethality	7.27E-08	○
	abnormal embryogenesis/ development	1.43E-06	○
Spleen	abnormal blood cell physiology	1.39E-46	○
	abnormal hematopoietic system physiology	7.19E-46	○
	abnormal immune cell physiology	2.10E-43	○

* 個々の組織細胞で高発現している遺伝子群が全遺伝子群間で検出される遺伝子の割合を上回る確率

** 個々の組織特異的な表現型ならば○、異なれば×で示す

第三章

1 細胞期胚における転写制御機構の解析

緒言

遺伝子の転写はプロモーター領域によって制御されており、プロモーター領域に存在する保存領域としてコアプロモーター領域と近位プロモーター領域が存在する。コアプロモーターの中でも特に TATA ボックスとイニシエーター (Inr) は、基本転写因子により直接認識される重要なエレメントであると考えられている (Roeder, 1996; Smale, 1997)。また、コアプロモーターの上流には近位プロモーターエレメントが存在し、転写効率を上昇させるために必要となる (Blake et al, 1990)。さらに、遺伝子領域の上流もしくは下流数 kbp 以上の領域には転写を促進させるエンハンサー領域が存在しており、その働きにより転写因子のプロモーター領域へのアクセス効率が上昇し、遺伝子の転写活性が促進される (Banerji et al, 1981; de Villiers & Schaffner, 1981; Moreau et al, 1981)。また、転写開始点付近には CG の 2 塩基で高頻度に構成される CpG アイランドが存在し、CpG アイランドのシトシンが非メチル化状態のとき転写因子は結合サイトを認識することができ、メチル化状態だと結合サイトを認識することができないように制御されている (Costello et al, 2000; Cross & Bird, 1995)。そして、CpG アイランドは、CG の密度により High CpG Promoter (HCP)、Intermediate CpG Promoter (ICP) そして Low CpG Promoter (LCP) の 3 つのクラスに分類することができる (Weber et al, 2007)。中でも、HCP はハウスキーピング遺伝子に多く、LCP は組織特異的な遺伝子に多く存在している (Saxonov et al, 2006)。以上に加え、近位プロモーター領域には組織特異的に機能する転写制御エレメントも存在する。例えば、卵特異的に発現する *Zona Pellucida glycoprotein (Zp)* や *Growth differentiation factor 9 (Gdf9)* は、そのプロモーター領域に E-box と呼ばれる転写制御エレメントが存在し、E-box は、これらの遺伝子が卵特異的に発現するために重要であることが示されている

(Liang & Dean, 1993; Millar et al, 1991; Yan et al, 2006)。

これまでに、1 細胞期胚における転写制御機構についての知見はいくつか存在している。ウイルス由来の制御領域を組み込んだレポータープラスミドを用いた実験において、1 細胞期胚ではエンハンサーを持たないプラスミドにおいて転写活性が見られるが、2 細胞期胚では見られなくなる。そして、DNA 複製阻害剤であるアフィジコリン処理により 1 細胞期胚の細胞分裂を阻害し、1 細胞期胚の核内環境を 2 細胞期胚に相当する時期まで維持したとき、1 細胞期胚同様エンハンサー非依存的な転写活性が得られることが明らかになっている (Majumder et al, 1993; Wiekowski et al, 1991)。このことから、受精後にエンハンサーを必要とする時期は 2 細胞期胚の DNA 複製後からであることが示された。さらに、2 細胞期胚においてヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である butyrate 処理によりクロマチン構造を緩めた場合、エンハンサーを持たないものでもエンハンサーをもつものと同程度の転写活性を示すことが明らかになっている (Majumder et al, 1993)。したがって、1 細胞期胚は転写の活性化にエンハンサーを必要とする抑制的なクロマチン構造をとっておらず、エンハンサーを必要としない緩いクロマチン構造をとっていることが示された。また、これら外来性の制御領域だけではなく、実際に 1 細胞期胚で転写される *Tkt11* の転写制御領域を用いたとき、エンハンサーの有無に関わらず 1 細胞期胚では転写活性がみられ、DNA 複製後の 2 細胞期後期ではエンハンサー非存在下では転写活性が見られないことが確認された (Hamamoto et al, 2014)。さらに興味深いことに、1 細胞期胚ではプロモーター領域を組み込んでいないレポータープラスミドからも転写活性が見られ、5' RACE 法によりレポーター遺伝子上流において、GC 含量の高い領域の直下に転写開始部位 (Transcription Starting Site; TSS) が存在することが明らかになった (Abe et al, 2015)。

以上のように、1 細胞期胚における独特な転写制御機構についての知見はいくつか得られている。しかしながら、これらは特定の制御配列により得られた知見であり、1 細胞期胚においてゲノムワイドに見られる特徴であるかどうかは定かではない。第 1

章および第 2 章で、1 細胞期胚で転写される遺伝子を数多く特定し、さらに 1 細胞期胚では特異的に高発現している遺伝子の割合が高く、他の細胞でも共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合が低く、ユニークな遺伝子発現パターンを形成することが示唆された。したがって、1 細胞期胚ではこのユニークな遺伝子発現パターンを形成するために独特な転写制御機構が働いている可能性がある。

1 細胞期に転写される遺伝子の転写制御領域の特徴解析は、生命最初の遺伝子発現を開始するためのメカニズムを理解する上で重要な過程である。そこで、本章では未受精卵、着床前初期胚そして複数の組織細胞において高発現している遺伝子の転写制御領域を用いたプロモーター解析を行うことで、1 細胞期胚における既知プロモーターエレメントの特徴解析および 1 細胞期胚特有の転写制御エレメントの探索を行う。さらに、1 細胞期胚ではハウスキーピング遺伝子と比較して特異的に高発現している遺伝子の割合が多いことから、HCP よりも主に LCP による制御を受けている可能性があると考え、各遺伝子の TSS 付近における CpG 密度の解析も行う。

結果

1 細胞期胚における既知転写制御エレメントの転写制御への関与

1 細胞期胚の転写制御機構を明らかにするために、まず初めに 1 細胞期胚および他の種類の細胞それぞれで高発現している遺伝子のプロモーター領域（転写開始点上流 1000 bp ~ 下流 200 bp : -1000 bp ~ +200 bp）における既知転写制御エレメントを調べた。既知転写制御エレメントとして、近位プロモーターエレメント（CAAT box : -105 bp ~ -70bp、GC box : -74 bp ~ -45 bp）およびコアプロモーターエレメント（TATA box : -40 bp ~ -23 bp、Inr : -5 bp ~ +6 bp）を調べることにした。MII 期卵、着床前初期胚そして 7 種類の組織細胞それぞれで高発現している遺伝子（RPKM 値の高い上位 2000 個）において、各々のプロモーターエレメントをプロモーター領域に持つ遺伝子の割合を求めたところ、どの種類の細胞においても各々のプロモーターエレメントをもつ遺伝子の割合は類似しており、1 細胞期胚で目立った特徴は見られなかった（図 III-1）。

1 細胞期胚における新規転写制御エレメントの探索

次に、成長期卵、着床前初期胚そして複数の組織細胞それぞれで高発現している遺伝子のプロモーター領域における新規転写制御エレメントの探索を行い、これらと比較することで 1 細胞期胚特有の新規エレメントの検出を試みた。解析の際、6 bp で作成可能な全ての塩基配列（ $4^6 = 4096$ 通り）を用いて k-mer 解析を行った。k-mer 解析では、作成した 4096 通りの塩基配列をそれぞれ各遺伝子のプロモーター領域に割り当てていき、ある配列がヒットした場合、その遺伝子はヒットした 6 塩基配列をそのプロモーター領域に持つものとしてカウントした。このようにして、それぞれの配列につ

いて、その配列をプロモーター領域に持つ高発現遺伝子の数を調べた。そして、この数が多い配列を順に並べたところ、1細胞期胚では上位5番目まですべてG/Cリッチな配列であった(図III-2)。しかしながらこのような傾向は、他の着床前初期胚、成長卵および調べたすべての組織細胞でも同様に見られた。さらに、1細胞期で上位5位に入った配列はすべて他の細胞でも上位に来ており、1細胞期で特異的に働くエレメントを発見することはできなかった。

1細胞期胚における CpG プロモーターの特徴解析

図II-2、図II-3で示すように、1細胞期胚がユニークな遺伝子発現パターンを示す原因として、1細胞期胚特異的に高発現している遺伝子の割合が高く、他の細胞と共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合が低いことが示唆された。したがって、1細胞期胚では、組織特異的遺伝子の制御に関わる低密度 CpG プロモーター (Low CpG Promoter : LCP) の割合が高く、ハウスキーピング遺伝子の制御に関わる高密度 CpG プロモーター (High CpG Promoter : HCP) の割合が低いという可能性がある。そこで、成長期卵、着床前初期胚それぞれで高発現している遺伝子の転写開始点周辺 (-500 bp ~ +2000 bp) において、各 CpG プロモーターをもつ遺伝子の割合を比較した(表III-1)。解析の結果、1細胞期胚で高発現している遺伝子において CpG 密度がアンノテーションされている 1990 遺伝子のうち、LCP プロモーターをもつ遺伝子は 135 個 (6.8%) であり、HCP プロモーターをもつ遺伝子は 1679 個 (84.4%) であった。そして、個々の CpG プロモーターの割合は、他の種類の細胞と類似していた。したがって、CpG プロモーターにおける制御機構についても、1細胞期胚で特徴的な機構は存在しないことが示唆された。

考察

第二章において、1細胞期胚は特異的遺伝子が数多く高発現しており、一方で他の細胞で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合が少ないため、非常にユニークな遺伝子発現パターンを形成していることが明らかとなった。そのため、1細胞期胚では他の種類の細胞とは異なり特徴的な転写制御機構が働いていることが示唆された。しかしながら、本章において卵、1細胞期胚を含む着床前初期胚そして複数の組織細胞それぞれで高発現している RPKM 値の高い上位 2000 個の遺伝子についてプロモーター解析を行った結果、他の種類の細胞と比較して1細胞期胚で明確な違いは見られなかった。

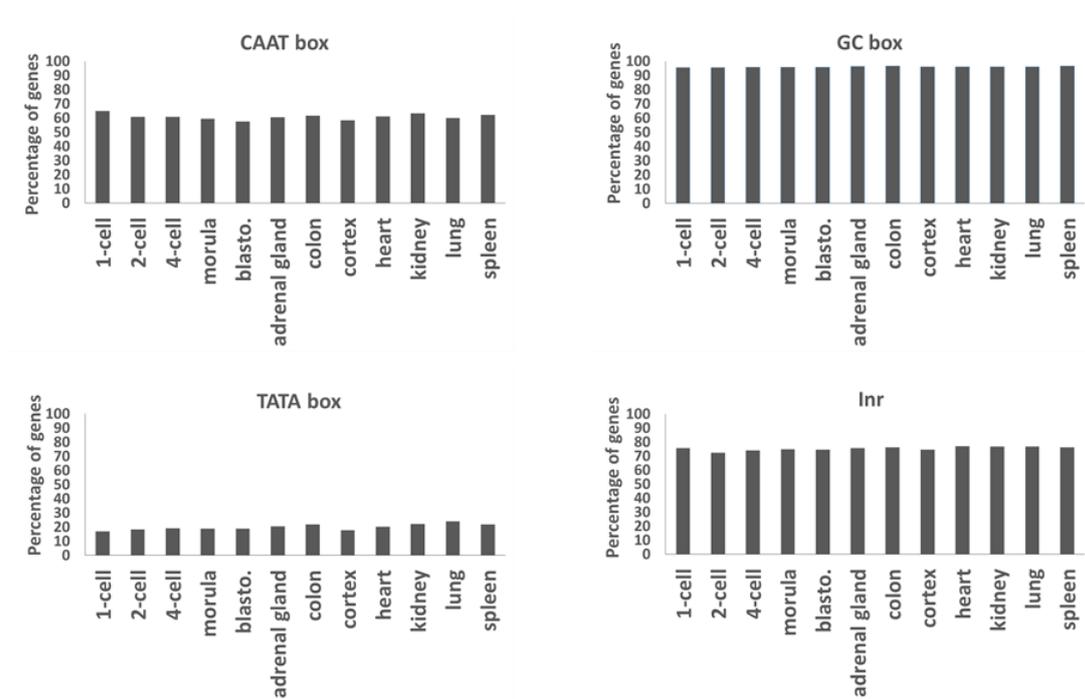
1細胞期胚が特徴的な転写制御機構を持たないにもかかわらず、ユニークな遺伝子発現パターンを示している理由として、次のことが考えられる。通常、細胞に必要な遺伝子が発現する際、エンハンサーや近位プロモーターにより転写活性が促進されることで、必要な遺伝子の転写活性が上昇する。しかしながら、1細胞期胚ではエンハンサー非依存的な転写制御機構が働いていること、さらにはコアプロモーターのみでも転写活性が見られることから (Hamamoto et al, 2014)、個々の遺伝子はエンハンサーや近位プロモーターによる転写促進を受けていないことが考えられる。その結果、1細胞期胚で転写されている遺伝子は極端に高いレベルの発現を行うものがなく、各遺伝子間での発現量の差が全体として小さい傾向にあるものと考えられる。このことは、第二章におけるバイオリンブロットによる解析結果 (図 II-4)、すなわち発現量の幅は1細胞期胚でもっとも小さかったという結果と矛盾しない。また、80%以上の細胞で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合は、1細胞期胚以外の細胞ではおよそ80%を占めていたが、1細胞期胚ではそれがわずかに28%であった (図 II-3)。したがって、

1 細胞期胚以外の細胞では極端に高発現しているハウスキーピング遺伝子が存在しそれらが多くの細胞に共通している一方で、1 細胞期胚では発現量の差が全体に小さいためにそれらの遺伝子が上位 2000 位から漏れて、他の細胞では上位 2000 位に入らなかったハウスキーピング遺伝子やその他のものが上位 2000 位に含まれるようになり、その結果、1 細胞期胚は他の細胞と比較してユニークな発現パターンとなる解析結果が得られたものと考えられる。そしてこのように、1 細胞期胚でのユニークな遺伝子発現パターンが特定の遺伝子を高発現させていることに依らないのであれば、本章で行った制御領域の解析において特徴的なエレメントを見いだせなかったことは当然の結果と言える。

転写エレメントに着目したとき、1 細胞期胚で他の細胞と異なる特徴は見られなかったが、これまでに報告されている 1 細胞期胚のクロマチン構造の特徴を考慮すると、他の細胞には見られない特有の転写制御機構の存在を考えることができる。緒言の項で述べたように、2 細胞期胚においてヒストン脱アセチル化酵素阻害剤である butyrate 処理を行ったところ、1 細胞期胚と同様にエンハンサーを必要としない転写制御機構が見られたことから、1 細胞期胚では緩いクロマチン構造をとっていることでエンハンサーを必要としない転写制御機構が働いていることが示唆された (Majumder et al, 1993)。さらに、蛍光タンパク質で標識したコアヒストンの置換速度を解析することで、クロマチンの緩みを定量的に評価することができる Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP) 法により、1 細胞期胚は着床前初期胚の中で最もクロマチン構造が緩いことが示された (Hashimoto, 2014; Ooga et al, 2016 in press)。一方、本章では、1 細胞期胚を含むすべての細胞で、高発現している遺伝子のおよそ 90%がプロモーター領域に GC box (NRGGGGCGGGGCKN; N = A, C, G or T; R = A or G; K = G or T) が存在しており、また k-mer 解析より G/C リッチなモチーフを多く持つことが示された。実際に、GC box を認識する転写因子 Sp1 は受精後の 1 細胞期胚の転写制御に関わっていることが報告されており (Worrada et al, 1994; Worrada & Schultz,

1997)、GC box を認識した転写制御機構が働いていると考えられる。一般的に GC box は GGGCGG の配列で定義されるが、G[T]GGGCGGG(A)G[A]C[T]のように配列を 10 bp に広げると、一部の配列に変異があっても転写活性が低下するものの Sp1 は結合して転写を調節できることが知られている (Kadonaga & Tjian, 1986; Kriwacki et al, 1992)。また、GGGGNGGGGC (N = A, C, G or T) のように GC box に 1 塩基の変異が置換された配列において、Sp1 の親和性が大きく低下することが報告されているが (John and Dynan, 2010)、1 細胞期胚においてこのような転写活性の低下は軽微なものであった (Watanabe, 2015)。つまり、k-mer 解析により検出した上位の G/C リッチモチーフは、1 細胞期胚において GC box 様モチーフとして働くものと考えられ、1 細胞期胚において Sp1 は GC box にある程度の変異を許容した配列をも認識している可能性がある。そして、oligo-capped cDNA ライブラリより同定したヒト転写開始点を用いたプロモーター解析より、NRGGGGCGGGGCNK のように一定の変異を許容した GC box コンセンサス配列は、ヒトの遺伝子で 97% のプロモーター領域に存在することが報告されている (Suzuki et al, 2001)。したがって、クロマチン構造が緩んで転写調節にエンハンサーを必要としない 1 細胞期胚では、このようなほとんどの遺伝子の上流領域にある GC box 様配列を用いて転写が行われている可能性がある。さらに、もしこの仮説が正しいならば、上記のような一定の変異を許容した配列は遺伝子間領域でも至る所に存在することから、遺伝子間領域の様々な場所から転写が起こっていることが予想される。そして実際に、遺伝子間領域の転写の解析から、1 細胞期胚では他の発生時期の胚や体組織の細胞に比べて数多くの遺伝子間領域が転写されていることが明らかとなっている (Abe, 2013)。以上のように、本章におけるプロモーターエレメントおよび k-mer 解析の結果、1 細胞期胚において転写エレメントに目立った特徴は見られなかったが、1 細胞期胚にのみ、多くの遺伝子のプロモーター配列に存在する GC box、GC box 様モチーフが独自に機能する特殊な転写制御機構が働いている可能性がある。

図Ⅲ-1



図Ⅲ-1. 着床前初期胚および組織細胞で高発現する遺伝子のプロモーターエレメントの解析

各細胞種でRPKM値の高い上位2000遺伝子のうち、そのプロモーター領域に各コアプロモーターエレメントあるいは近位プロモーターエレメントを有するものの割合を調べた。コアプロモーターとしてTATA box [-40 bp ~ -23 bp] およびInr [-5 bp ~ +6 bp] を、近位プロモーターとしてCAAT box [-105 bp ~ -70bp] およびGC box [-74 bp ~ -45 bp] を解析対象とした。縦軸は、各々のエレメントをプロモーター領域に含んでいる遺伝子の割合をそれぞれ示している。

図 III-2

1-cell	順位	GO	2-cell	4-cell	morula	blastocyst
GGGCGG	1	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG
GGCGGG	2	GGCGGG	GGCGGG	GGCGGG	GGCGGG	GGCGGG
GGGAGG	3	GGGAGG	CCCGCC	GGGAGG	GGGAGG	GGGAGG
CCGCC	4	CCGCC	GGGAGG	CCGCC	CCCGCC	CCCGCC
CCCGCC	5	CCCGCC	GCGGC	CCCGCC	CCTCC	CCGCC

1-cell	順位	adrenal gland	colon	cortex	heart	kidney	lung	spleen
GGGCGG	1	GGGCGG	GGGAGG	GGGAGG	GGGAGG	GGGAGG	GGGAGG	GGGAGG
GGCGGG	2	GGGAGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG	GGGCGG
GGGAGG	3	CCTCC	GCTGG	CCTCC	CCTCC	CCAGC	GCTGG	GCTGG
CCGCC	4	CCGCC	CCAGC	GGCGG	GCTGG	CCTCC	CCAGC	GGCGG
CCCGCC	5	GGCGG	CCTCC	GAGG	CCAGC	GCTGG	CCTCC	CCTCC

図 III-2. 成長期卵、着床前初期胚そして組織細胞で高発現している遺伝子のプロモーター領域に対するk-mer解析

6 bpで作成可能な全ての配列(4096通り)を、成長期卵(GO)、着床前初期胚(1-, 2-, 4-cell, Morula, Blastocyst)そして組織細胞でRPKM値の高い上位2000遺伝子のプロモーター領域[-1000 bp ~ +200 bp]にそれぞれ検索をかけ、ヒットした遺伝子数をカウントした。図では、ヒット数の多かった上位5配列のみ示している。1細胞期胚(1-cell)で検出された上位5配列が他の種類の細胞でも存在していた場合、それぞれ同色で示している。

表Ⅲ-1. 各CpGプロモーターをもつ遺伝子数 (%)

プロモーター	GO	1-cell	2-cell	4-cell	morula	blastocyst
LCP	137 (7.6)	135 (6.8)	109 (6.0)	104 (5.7)	115 (6.4)	113 (6.2)
ICP	168 (9.3)	176 (8.8)	150 (8.3)	141 (7.8)	143 (7.9)	152 (8.4)
HCP	1496 (83.1)	1679 (84.4)	1556 (85.7)	1564 (86.5)	1549 (85.7)	1552 (85.4)
合計数	1801	1990	1815	1809	1807	1817

総括

本研究では、これまでにほとんど明らかにになっていなかったマウス 1 細胞期胚で転写される遺伝子、およびその発現調節機構を解明することを目的とした。

第一章では、これまでほとんど特定されていない 1 細胞期胚で転写される遺伝子の特定を試みた。RNA-seq より得られた MII 期卵および 1 細胞期胚におけるトランスクリプトームデータより、1 細胞期胚での転写産物の多くはイントロンを含んでいることを発見し、1 細胞期胚ではスプライシング機構が機能していないことを実験的に明らかにした。そして、受精前と比較して 1 細胞期胚でイントロンの発現が上昇している 4575 個の遺伝子を 1 細胞期に転写される遺伝子として特定することができた。スプライシング機構が働かないという 1 細胞期胚の特徴を用いることにより、従来 1 細胞期胚で転写される遺伝子の特定を試みた過去の研究で問題となっていた「1 細胞期胚に大量の持ち込まれた母性 mRNA と新規の転写産物の識別」を可能にし、信頼性の高い遺伝子プロファイルを作成できたものと考えられる。

第二章では、特定した遺伝子を用いて 1 細胞期の遺伝子発現パターンの特徴解析を行った。まず、発生過程で総 mRNA 量が大きく変動する初期胚の解析において、個々の胚の発現パターンの特徴を掴むためには、高発現している上位 2000 個の遺伝子リストを用いることが有効であることを示した。そして、個々の細胞におけるそれらリストの類似性を比較したとき、1 細胞期胚は独立したクラスターを形成し、ユニークな遺伝子発現パターンを示すことが明らかになった。

1 細胞期胚はユニークな遺伝子発現パターンを形成することが示されたため、第三章では、1 細胞期胚ではユニークな転写制御機構が働いているかを明らかにすることを目的とした。しかしながら、個々の細胞で高発現している上位 2000 個の遺伝子に

ついて、プロモーターエレメントの特徴解析、k-mer 解析による細胞種特有の転写制御エレメントの探索、そして各 CpG プロモーターの分布の解析を行ったところ、何れにおいても 1 細胞期胚でのみ見られる特徴は見つからなかった。これは、エンハンサー非依存的な転写制御機構が働く 1 細胞期胚において極端に高いレベルの発現を行う遺伝子が存在せず、各遺伝子間での発現量の差が全体として小さいために得られた結果であると考えられる。つまり、1 細胞期胚では、他の細胞で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子の転写レベルが落ち込み、他の細胞で高発現していなかったハウスキーピング遺伝子およびその他の遺伝子が発現量の高い上位に含まれるようになり、ユニークな遺伝子発現パターンを形成したと考えられた。

1 細胞期胚は、受精前の MII 期卵とタンパク質合成パターンに違いが見られないことに加えてスプライシング機構が働かないことから、合成された転写産物は機能をもつタンパク質に翻訳されていないものと考えられる。このことは、1 細胞期における転写は機能を持たないものであることを想起させるが、一方で、1 細胞期の転写が大部分を占める minor ZGA での転写を一過的に阻害することにより発生が停止することが報告されている (Abe, 2013)。したがって、1 細胞期胚における転写は、その産物である RNA が機能を持つのではなく、転写という現象自体が機能を持つものであることが考えられる。既に述べたように、1 細胞期胚はどの細胞よりも緩いクロマチン構造をとっており (Hashimoto, 2014; Ooga et al, 2016 in press)、エンハンサーを必要としない転写制御を行っている (Majumder et al, 1993; Wiekowski et al, 1991)。そして、ほとんどの遺伝子の上流領域に存在する GC box 様配列を用いて、ゲノム全体で一様な転写を起こしている可能性がある。このような転写自体を起こすことの意義として、着床前初期胚発生の進行に伴う遺伝子発現の劇的な変化 (Hamatani et al, 2004) に早急に対応するための準備を予め行っていることが考えられる。初期発生過程に伴い遺伝子発現パターンが大きく変化するが、これらの活性化が生じる直前にクロマチン構造を適切な形に切り替えるのではなく、1 細胞期に転写を起こすことで、必要な時期にいつでも

転写の活性化を誘導できるように予めベースを構築しておく必要がある。このベースとなるものにエピジェネティック修飾が挙げられる。一般に、新しく複製された DNA における最初の転写においては、転写開始時にヒストン H2B ユビキチン化酵素 *Bre1*、ヒストン H3K4 メチル化酵素 *Set1* そしてヒストン H3K36 メチル化酵素 *Set2* が RNA polymerase II (Pol II) に結合する。*Bre1* によるヒストン H2B ユビキチン化は転写の引き金となり、ヒストン H3K4 およびヒストン H3K79 のメチル化に必要となる。次に、転写伸長反応が起こる際、Pol II の Serine2 がリン酸化され、このとき、同時に *Set1* が Pol II から解離する。転写が行われた後の遺伝子はヒストン H3K4、ヒストン H3K36 そしてヒストン H3K79 がメチル化されており、転写の強い活性化を誘導するようになる (Martin & Zhang, 2005)。このように、ある領域において初めて起こる転写は、その後の転写の強い活性化に繋げるようにクロマチン構造を適切な形に変化させているものと考えられる。一方、受精前後ではゲノムリプログラミングと呼ばれる機構により遺伝子発現パターンは大きく変化する (Hamatani et al, 2004; Kageyama et al, 2007)。このとき、受精前の卵におけるエピジェネティックな情報が刷新され、1 細胞期で最初の遺伝子発現が開始すると考えられている (Akiyama et al, 2011; Ooga et al, 2008)。したがって、1 細胞期で遺伝子発現が開始される際には、上述したような新しく複製された DNA 上での最初の遺伝子発現と同様の環境がゲノム全体で形成されるのではないかと考えられる。これによって、1 細胞期における最初の転写は、その後の発生の進行に伴う遺伝子発現の劇的な変化にスムーズに対応するために、予めクロマチン構造を適切な形に変化させている可能性がある。この場合、発現する遺伝子の転写産物は特に意味を持たず、その遺伝子が転写されること自体に重要な役割があるということが言える。以上の例の他にも、転写に付随して生じるエピジェネティック修飾はいくつか報告されており (Butler and Dent, 2012; Das and Tyler, 2013; Weber and Henikoff, 2014)、同様にベースを構築している可能性がある。これらの可能性を明確にするためには、クロマチン免疫沈降法 (chromatin immunoprecipitation: ChIP) と次世代シー

ケンスを組み合わせた ChIP シーケンス解析により、初期胚の多様な時期におけるヒストン修飾およびヒストン修飾酵素に着目した複合的な解析が必要となる。しかしながら、過排卵処理を施した一匹のマウスからでさえおよそ 40 個の卵しか得られないため、初期胚においてこれらの解析を行うには解析材料が圧倒的に不足している。今後、このような問題を回避できる代替技術による解析が必要になる。

以上のように、1 細胞期胚は以降の発生を効率的に進めるための準備を行うためにゲノム全体から転写を起こしていると考えられる。しかしながら、この時合成された転写産物が翻訳されタンパク質として機能したとき、胚発生に有害なものが存在する可能性が大いにある。そこで、このような危険性からの防御機構として、1 細胞期胚ではスプライシング機構が働かないことで、有害なタンパク質の合成を阻害しているものと考えられる。

本研究において、1 細胞期に転写される遺伝子プロファイルを作成したことにより、これまでほとんど知見を得ることができなかった生命の誕生後最初に起こる遺伝子発現について解析の幅を大幅に広げることができた。さらに、特定した遺伝子を用いた解析により、1 細胞期胚で起こる遺伝子発現には特殊性が見られる可能性を示すことができ、この分野の発展に大きく貢献できたものとする。今後、この研究を糸口に 1 細胞期胚の遺伝子発現制御機構についての全貌が明らかになることが期待される。

謝辞

本論文を終えるにあたり、研究および論文の作製に終始親身に御助言、御指導頂きました東京大学 大学院新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 資源生物制御学分野 青木不学 教授に心より深く感謝いたします。また、研究を進める上で様々な御助言を頂きました同大学大学院同分野 鈴木雅京 准教授に深く感謝いたします。

研究の進行におきまして RNA シーケンスでご協力いただきました同大学大学院 メディカル情報生命専攻 情報生命科学講座 鈴木穰 教授に深く感謝いたします。また、解析面におきまして様々な御助言を頂きました同大学大学院メディカル情報生命専攻 情報生命科学講座 出向研究員 堀内映美様に深く感謝いたします。

また、研究および実験について様々な御助言を頂きました同大学大学院同分野の先輩の皆様に深く感謝いたします。そして、どのような苦勞および困難にも強い励ましの言葉を頂いた同大学大学院同分野の河村真愛氏および研究室の皆様に深く感謝いたします。

最後に、本研究を円滑に進められるように素晴らしい環境を提供して頂いた家族に心より深く感謝いたします。ありがとうございました。

材料と方法

成長期卵の採取

成長期卵は生後 12 日齢の ddY 雌マウス (SLC Japan Inc., Shizuoka, Japan) から採取した。マウスは頸椎脱臼法によって屠殺し、その卵巣を摘出して KSOM-HEPES 培地 (Lawitts & Biggers, 1993) 中においた後に注射針を使用して卵胞を破壊し、放出された成長期卵からガラスピペットを用いたピペッティングにより周囲の卵丘細胞を取り除いた。

成熟卵の採取

生後 21 日齢の ddY 雌マウスに過排卵処理として 5 IU の pregnant mare serum gonadotropin (PMSG; ASKA Pharmaceutical Co. Ltd., Tokyo, Japan) を腹腔内投与した。PMSG 投与 48 時間後に 5 IU の human chorionic gonadotropin (hCG; ASKA Pharmaceutical Co. Ltd.) を腹腔内投与し、その 15 時間後に頸椎脱臼法にてマウスを屠殺し、卵管膨大部より第二減数分裂中期 (metaphase II; MII) に達した卵母細胞 (MII 期卵) を 10 mg/ml bovine serum albumin (BSA; SIGMA-Aldrich, MO USA) を含む HTF 培地 (Quinn & Begley, 1984) に採卵した。続いて卵丘細胞を取り除くために、最終濃度 333 µg/ml のヒアルロニダーゼ (SIGMA Aldrich CO.) を添加し、37°C で 7 分間培養した。その後、新たな HTF 培地に移し、ガラスピペットを用いたピペッティングにより周囲の卵丘細胞を取り除き、成熟卵を採取した。

体外受精

生後 21 日齢の ddY 雌マウスに過排卵処理として 5 IU の PMSG を腹腔内投与

した。PMSG 投与 48 時間後に 5 IU の hCG を腹腔内投与し、その 15 時間後に頸椎脱臼法にてマウスを屠殺し、卵管膨大部より MII 期卵を HTF 培地に採取し体外受精に用いた。精子は ICR 雄マウス (SLC Japan Inc.) の精巣上体尾部から採取した。採取した精子は受精能を獲得させるため、HTF 培地で予め 2 時間培養し体外受精に用いた。媒精 6 時間後、受精卵を KSOM 培地 (Lawitts & Biggers, 1993) に移して、ガラスピペットを用いたピペッティングにより透明帯外に付着した精子および卵丘細胞を除去し、実体顕微鏡下で前核を 2 つ有する受精卵のみ選択した。その後も KSOM 培地中で 38°C、5%二酸化炭素条件下で培養を継続した。

単為発生胚の作製

生後 21 日齢の ddY 雌マウスを頸椎脱臼法にてマウスを屠殺し、卵管膨大部より MII 期卵を KSOM 培地に採卵した。続いて卵丘細胞を取り除くために、最終濃度 333 $\mu\text{g/ml}$ のヒアルロニダーゼ (SIGMA Aldrich CO.) を添加し、37°C で 7 分間培養した。そして、卵を新たな KSOM 培地に移し、ガラスピペットを用いたピペッティングにより周囲の卵丘細胞を取り除き、KSOM 培地中で 38°C、5%二酸化炭素条件下で 2 時間培養を継続した。続いて、カルシウム free の KSOM 培地でガラスピペットを用いたピペッティングを行った。卵を活性化させるために最終濃度 10 mM の塩化ストロンチウムを加え、第二極体の放出を防ぐことによる 2 倍体の単為発生胚を作製するために、最終濃度 5 $\mu\text{g/ml}$ のサイトカラシン B (SIGMA Aldrich Co.) を添加した。そして、38°C、5%二酸化炭素条件下で 30 分 ~ 1 時間培養した。培養後、カルシウムおよびサイトカラシン B 入りの KSOM 培地でガラスピペットを用いたピペッティングを行い、活性化 6 時間後、二つの前核を有する卵のみ選択し、活性化 13 時間後まで培養を継続した。

RT-PCR

RT-PCR に用いた卵母細胞、着床前初期胚のサンプルは KSOM-HEPES 培地

で洗浄後 400 μ l の ISOGEN (Nippon Gene Co., Toyama, Japan) に入れ、 -80°C にて一時保存した。その後、室温に戻し、それぞれのサンプルに外部標準として 100 pg/ml の rabbit α -Globin mRNA を 1 μ l ずつ添加し、100 μ l のクロロホルムを加えて激しく混合した。 4°C で 5 分間放置した後、15,000 rpm、 4°C 条件下で 15 分間遠心し、RNA の含まれる上層（水層）の 200 μ l を新しいエッペンチューブに移した。共沈剤として 20 $\mu\text{g/ml}$ Ethachinmate (Nippon Gene Co.) をそれぞれのチューブに 1.5 μ l ずつ加えしっかりと攪拌した後、イソプロパノールを 160 μ l ずつ加え、激しく攪拌した。 4°C で 1 時間保存した後に、15,000 rpm、 4°C で 15 分間遠心し、RNA の沈殿を得た。この沈殿を 1 ml の 70%エタノールで洗浄し、再び 15,000 rpm、 4°C で 10 分間遠心した。70%エタノールを除去し、デシケーターを用いて 7 分間吸引乾燥した後、8 μ l の RNase free water を加えてよく攪拌した。得られた total RNA サンプルは 55°C で 10 分間インキュベートすることにより完全に溶解した。その後、RQ1 RNase-free DNase (Promega Co. WI, USA) を用い、添付のプロトコールに従い DNase 処理を行った。具体的には、得られた total RNA 8 μ l に対して 1 μ l の RQ1 RNase-free DNase 10 \times Reaction buffer および 1 μ l の RQ1 RNase-free DNase を加えて攪拌し、 37°C で 30 分間処理することで total RNA に含まれる genomic DNA を消化した。その後、1 μ l の RQ1 DNase stop solution を加えて攪拌し、 65°C で 10 分間インキュベートすることで反応を停止させた。

cDNA 作製のための逆転写反応には Prime script RT-PCRkit (TAKARA Bio., Shiga Japan) を用い、手順は全て添付のプロトコールに従った。抽出後、genomic DNA を分解処理した total RNA 8 μ l に 1 μ l の 10 mM dNTP mixture、20 μM random 6 mers を加えて全量を 10 μ l とし、この混合液を 65°C で 5 分間インキュベートし、鋳型となる RNA の高次構造の破壊およびプライマーのアニーリングを行った。 4°C で 1 分以上放置した後に 4 μ l 5 \times Prime script buffer、0.5 μ l の 40 U/ μ l RNase inhibitor、Prime script RTase 0.5 μ l、そして RNase free water 5 μ l を加え、よく混合した。この反応液

を 30°C、10 分 → 42°C、30 分 → 95°C、5 分間のプログラムにより反応させて cDNA を作製した後に温度を 4°C に下げ、卓上遠心機プチまる 8 (WAKEN B TECH CO., LTD., Kyoto, Japan) を用いて遠心して反応液をチューブの底に集めて -20°C で保存した。

作製した cDNA を鋳型とし、表 M-1 に示す各遺伝子特異的プライマーを用いて PCR を行った。PCR 反応液は、2.5 μ l の 10 \times PCR buffer と 2 μ l の dNTP mix (各 5 mM)、0.125 μ l の ExTaq HS (TAKARA Bio)、そして 1.25 μ l の遺伝子特異的プライマー (sense, anti sense 各 10 μ M) を加え全量が 25 μ l となるように調製した。PCR 反応は 94°C、2 分 → (94°C、20 秒 → 57-62°C、30 秒 → 72°C、20 秒) (括弧内を 25-36 cycle 反復) のプログラムを、iCycler (BIO-RAD-Laboratories, CA, USA) を用いて行った。

反応を終了した PCR 産物には 10 \times loading dye (TAKARA Bio) を加えて 2% アガロースゲルを用いた電気泳動で分離し、エチジウムブロマイド染色により UV トランスイルミネーターで可視化した。

免疫染色

免疫染色に用いた各発生段階の卵及び初期胚は、4%のparaホルムアルデヒド (Wako Chemical Industries., Osaka, Japan) を含む Phosphate-buffered saline (PBS, TAKARA BIO) 中で 15 分間固定し、1 mg/ml BSA を含む PBS (BSA/PBS) で洗浄した後に 0.5% Triton X-100 (SIGMA-Aldrich) を含む PBS 中で 15 分間、室温で処理した。その後、PBS/BSA により 100 倍に希釈した抗 SC-35 抗体 (S4045, SIGMA-Aldrich) 中で 4°C、一晩処理を行った。一次抗体処理を終えたサンプルは PBS/BSA で洗浄し、続けて 200 倍に希釈した Alexa 488 標識抗マウス IgG 抗体 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) を用い、室温で 60 分間反応させた。PBS/BSA で洗浄後、サンプルを Vectashield (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) に移してスライドグラス (Matsunami Glass, Osaka, Japan) 上に静置し、カバーガラス (Matsunami Glass) を被せて封入し標本作製した。この時、DNA 染色のために最終

濃度 3.3 $\mu\text{g/ml}$ の 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI; Dojindo Laboratories, Kumamoto, Japan) を Vectashield に添加した。蛍光観察には Zeiss 社の共焦点レーザー顕微鏡 (Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Oberkochen, Germany) を用いた。

in vitro transcription (IVT)

卵及び初期胚における顕微注入用の mRNA は *in vitro* transcription (IVT) により作製した。ショウジョウバエ *Ftz* 遺伝子のイントロンとエキソンの一部を含む pGEM *ftz* (京都大学 大野教授のご好意による) を鋳型とし、表 M-1 に示すプライマーを用いて PCR を行った。PCR 反応液を、5 μl の 10 \times PCR buffer と 2 μl の dNTP mix (各 2.5mM)、1 μl の ExTaq HS、そして 1 μl の遺伝子特異的プライマーを加えた後に全量が 50 μl となるように滅菌蒸留水で調製し、94 $^{\circ}\text{C}$ 、2 分 \rightarrow (94 $^{\circ}\text{C}$ 、20 秒 \rightarrow 60 $^{\circ}\text{C}$ 、30 秒 \rightarrow 72 $^{\circ}\text{C}$ 、20 秒) (括弧内を 30 cycle 反復) のプログラムを、iCycler (BIO-RAD-Laboratories) を用いて行った。

反応を終了した PCR 産物には 10 \times loading dye を加え、全量を 2%アガロースゲルを用いた電気泳動で分離し、エチジウムブロマイド染色により UV トランスイルミネーターで可視化した。その後増幅産物をアガロースゲルから切り出し、Wizard SV Gel and PCR clean-up system (Promega Co.) を用いて精製した。具体的にはアガロースゲル 10 mg に対して 10 μl となるように membrane binding solution を加え、65 $^{\circ}\text{C}$ でインキュベートしながら攪拌して完全に溶解した。これを SV マイクロカラムに加え室温で1分間インキュベートし 12,000 rpm で1分間遠心した後に、700 μl の membrane wash solution を加えて 12,000 rpm で1分間遠心した。さらに 500 μl の membrane wash solution を加えて 12,000 rpm で5分間遠心した。SV マイクロカラムを 1.5 ml チューブに移し、50 μl の nuclease-free water を加えて室温で1分間インキュベートした後、12,000 rpm で1分間遠心した。得られた精製物に対して全量が 200 μl となるように RNase free water を加えた後、3.3 μl 3M sodium acetate および 2 μl

ethachinmate を加えてしっかりと攪拌した。100%エタノールを 500 μ l 加えて 15,000 rpm、4°C で 15 分間遠心した後にエタノールを除去し、デシケーターを用いて 7 分間吸引乾燥した。7 μ l の RNase free water を加えて沈殿をよく攪拌した後に 55°C で 10 分間インキュベートすることにより完全に溶解した。

IVT には mMESSAGE mMACHINE T7 (life technologies) を用いた。0.2 μ g/ μ l の精製された PCR 産物 1 μ l に 2 μ l の 10 \times Rxn.buffer、10 μ l の 2 \times NTP/CAP そして 2 μ l の Enzyme Mix を加えて全量が 20 μ l になるように RNase free water を加えてよく混合した後、37°C で 2 時間転写反応を行った。その後、1 μ l の DNase turbo を加え 37°C で 15 分処理することで鋳型となった PCR 産物を分解した。80 μ l の RNase free water および 60 μ l の lithium chloride precipitation solution を加えてしっかりと攪拌した後、-20°C で 30 分間放置した。その後、15,000 rpm、4°C で 15 分間遠心分離し RNA の沈殿を得た。この沈殿を 1000 μ l の 70%エタノールで洗浄し再び 15,000 rpm、4°C で 10 分間遠心した後にエタノールを除去し、デシケーターを用いて 7 分間吸引乾燥し、20 μ l の RNase free water を加えてよく攪拌することで *ftz* pre-mRNA 溶液を得た。得られた RNA サンプルは 55°C で 10 分間恒温放置することにより完全に溶解し、濃度測定した後に -80°C で保存した。

成長期卵、1・2細胞期胚における *ftz* pre-mRNA の顕微注入

顕微注入に用いる pre-mRNA は RNase free water を用いて濃度を 200 ng/ μ l に調整し、ガラス毛细管 (GC100 Tf-10, Harvard Apparatus Ltd., Kent, UK) に入れた。このガラス毛细管を Inverted microscope (ECLIPSE TE300, Nikon Corporation, Tokyo, Japan) に付設した microinjector (IM300, Narishige Co., Ltd, Tokyo, Japan) に設置し、窒素ガスの圧力により成長期卵、1細胞期胚および2細胞期胚の核内へ顕微注入した。その際、顕微注入の操作は mineral oil を重層した KSOM-HEPES 培地中で行った。1細胞期胚は受精後 10 時間で雄性前核に顕微注入を行い、2細胞期胚は受精

後 30 時間で片側の割球の核内に顕微注入を行った。顕微注入後、成長期卵は α -MEM 培地 (Gibco-BRL, Grand Island, NY, USA) 内で、1・2 細胞期胚は KSOM 培地でそれぞれ 1 時間培養し、KSOM-HEPES で洗浄した後、12 個を 1 サンプルとして 400 μ l の ISOGEN に入れ-80°Cで保存した。凍結融解後、前述した RT-PCR の手順に従って cDNA を作製し、表 M-1 に示したプライマーセットを用いた増幅を行った。この時、逆転写反応は oligo (dT) primer を用いて行った。

RNA-seq データの解析

M II 期卵、1 細胞期胚そして RNA polymerase II のリン酸化を阻害する 5, 6-dichlorobenzimidazole riboside (DRB) により転写阻害を行った 1 細胞期胚における RNA-seq データを用いた解析を行った。各遺伝子の発現量の指標として、次世代シーケンサーによりマッピングされた各遺伝子のリード数を全リード数で割った値 (parts per million; ppm) および各遺伝子の ppm を各 mRNA の長さで補正した値 (Reads per kilobase of exon per million mapped reads; RPKM) を用いた (Mortazavi et al, 2008)。また、各サンプルの RNA-seq データにおいて、マッピングされたリード数が 10 リード以上の遺伝子を信頼性の高い発現量を持つ遺伝子として解析した。組織由来の RNA-seq データは Long RNAseq project, ENCODE/CSHL (<http://hgdownload.cse.ucsc.edu/goldenPath/mm9/encodeDCC/wgEncodeCshlLongRNASeq/>) より獲得した。イントロンの RPKM 値は次のように算出した。

(イントロンの RPKM) = (各々の遺伝子のイントロン領域の総リード数) $\times 10^9$ / (RNA-seq でマッピングされた総リード数) \times (各々の遺伝子のイントロンの全長)

遺伝子のアノテーションデータは University of California , Santa Cruz (UCSC), Genome Bioinformatics Group (mm9 releases)

(<http://hgdownload.soe.ucsc.edu/goldenPath/mm9/database/refGene.txt.gz>) を参考にした。

組織特有の表現型解析

副腎、大腸、大脳皮質、心臓、腎臓、肺、胎盤そして脾臓において、RPKM 値の高い上位 2000 個の遺伝子をそれぞれ欠損させた時に見られる表現型の頻度を調べた。

表現型の情報は ToppGene Suite (Chen et al, 2009) から獲得した。

階層的クラスタリング解析

解析の際、各種類の細胞で RPKM 値の高い上位 2000 位に含まれる遺伝子には「1」を、含まれない遺伝子には「0」を与えた。クラスター系統樹の作成には統計ソフト R の「Pvclust」パッケージ (Suzuki & Shimodaira, 2006) を用いた。

特異的遺伝子およびハウスキーピング遺伝子の抽出

各々の細胞で RPKM 値の高い上位 2000 個の遺伝子リストを比較したとき、他の種類の細胞には存在しない遺伝子を特異的に高発現している遺伝子とした。

ハウスキーピング遺伝子は、Chang らの報告 (Chang et al, 2011) におけるヒトのハウスキーピング遺伝子を参考にマウスのオルソログを獲得した。そして、各々の細胞の上位 2000 個に含まれており、且つ MII 期卵、着床前初期胚そして 12 種類の組織細胞の内 80%以上の細胞で共通して含まれているハウスキーピング遺伝子を細胞間で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子とした。

バイオリンプロットの作成

バイオリンプロットに用いるデータを作成するために、各々の細胞において、RPKM 値の高い上位 2000 遺伝子における発現量の中央値を求め、それぞれの RPKM

値を中央値で割ることで相対値を算出した。バイオリンプロットの作成には、統計解析ソフト R の「vioplot」パッケージを用いた。

プロモーター解析

プロモーター配列 (転写開始点 : TSS 上流 1000 bp ~ 下流 200bp) は、UCSC Genome Bioinformatics Group (mm9 releases) より獲得した。そして、獲得したプロモーター配列から CAAT box (TSS 上流 155 bp ~ 上流 20 bp)、GC box (TSS 上流 124 bp ~ 下流 5 bp)、TATA box (TSS 上流 90 bp ~ 下流 27 bp) そして Inr (TSS 上流 55 bp ~ 下流 56 bp) を抽出した。抽出した配列は RepeatMasker プログラム (<http://www.repeatmasker.org/>) を用いて、単純反復配列および散在反復配列を取り除いた。プロモーターエレメントは、TFBIND ソフトウェア (Tsunoda & Takagi, 1999) を用いて検出した。

k-mer 解析

k-mer (k = 6) 解析を行う際、6 塩基で作成可能な全ての配列 ($4^6 = 4096$ 通り) を作成し、個々の遺伝子のプロモーター配列にアライメントを行った。その際、TSS 上流 1000 bp から下流に向かって 1 塩基ずつずらしながらアライメントを行い、6 塩基配列が完全に一致したとき、そのエレメントをプロモーター領域に持つ遺伝子としてカウントした。

CpG アイランドの探索

CpG アイランドは UCSC Genome Bioinformatics Group (mm9 releases; <http://hgdownload.soe.ucsc.edu/goldenPath/mm9/database/cpgIslandExt.txt.gz>) より得たアノテーションファイルをもとに検出した。また、CpG 密度は Mikkelsen らの報告 (Mikkelsen et al, 2007) における分類法に従った。

表 M-1. PCRに使用したプライマーペアと反応条件の一覧

	symbol	Forward primer	Reverse primer	Tm (°C)	Cycle	
図 I-3	<i>Kdm4c</i>	AAGGAGTGGAAAGCCAAGACA	TTAGCCAGCTGCCTGAACTC	60	38	
	<i>Nid2</i>	CACCGAGGACAGTTTCCATT	CCAGTTACCAGGTGCTGGAT	60	38	
	<i>Sord</i>	GAAGGCAGTTGAAGCCTTTG	GCCCACTCCTTAGGCTCT	60	38	
	<i>Tec</i>	GTGTATGCACCCAGCAGAAG	CCAGGTACTCCATCCCTTCA	59	38	
	<i>Mfsd7c</i>	GTCCTTGCTGGTCTCTTGC	CTTCCTCTCGTGACCCTCAG	59	38	
	<i>Mpp4</i>	TTGATTACTGGCCCAAGAG	TAGAAGGGATTAGCCAGCA	62	38	
	<i>Actn2</i>	CTGGTACTTCGCCGGAGACT	GACAGACGGACGGAGAAATG	59	38	
	<i>Cmtm7</i>	AGAGGACATCCCTCCGTTCT	ATAGGGGCAGGAGACAGGAT	60.5	38	
	<i>Mxra7</i>	CAGTCACGCCTTGAGTGTGT	TTCTAGAGGACACCGGGATG	60	38	
	<i>Fam159a</i>	CACCATGGTTTGAACACAGC	GTCAGGACTGCCTGGAATGT	60	38	
	<i>Slc10a1</i>	ATCAGCCCCCTTCAATTTCT	CCAGAAGGAAAGCACTGAGG	60	38	
	<i>Dapl1</i>	TTTCCAGCGACAGTTACACAC	CCTGAGCTGTCAGATTGTGG	60.5	38	
	<i>Art3</i>	ACTTCCCCTTCAAGGCTTTT	TCTCCGGTTTGGCTGAATAC	57	38	
	<i>Gm885</i>	CGCTCTTCTGGGGTACAAAA	TGGCCATTGTGAAGTTGAAA	57	38	
	<i>Cacng3</i>	ACTCCTACGGCTGGTCCTTT	GCGAGAACTTGACCGTCTTC	60.5	38	
	<i>Fam105a</i>	CACACGTGCAGAAAAGCACT	CCCTCAATGGCAAAGTCAGT	60	38	
	<i>Morn5</i>	TGATGACGAACATGAGTGGA	CGAAGCTAGGACTACAGCCAGT	62	38	
	<i>Ghrh</i>	AGGGATTCCCAAGGATGAAG	CAGAGGACGGAAAAGGTCAG	60.5	38	
	<i>Klf5</i>	ACGTACACCATGCCAAGTCA	GTGGGAGAGTTGGCGAATTA	60	38	
	<i>Tsc22d3</i>	TCGTGAGCTGCTTGAGAAGA	GGAGCCAAAAACAACCTGGA	60	38	
	<i>Car5b</i>	AATGGCTTGGCTGTGATAGG	GGTCACGGTCAACCTCAACT	60	38	
	<i>Cdr4</i>	TACATCTCCCCGGCAGTAAC	GTGCAGGTTCTGGGACAAAT	60	38	
	<i>0610012H03Rik</i>	GGCACCAATTCTAACCCTTT	ACTATCGGAAATGGCAATC	60	38	
	図 I-5、図 I-6	<i>Nid2</i> (Exon4 – Intron)	TCCTCATTACCCGAGTCTG	TTTGTCAACTCTGCTACATTTCTTT	60	38
		<i>Mxra7</i> (Intron-Exon2)	CAGAGATGGTCCGTCTGGTT	CTTCCTCAGGTTCTCAGTGG	60	38
		<i>Klf5</i> (Intron-Exon2)	ACTTAGGAGTTGGCCCCGT	GAAC TGGAGGGAGCTGAGG	60	38
<i>Sord</i> (Intron-Exon2)		TTCAATGAACTCCAGGAGAA	CCGAGCTCAGGTATTGGGTA	60	38	
図 I-9	<i>ftz</i>	CTGGCTTATCGAAATTAATACGACTCA	T (40nt) AGATCTTGATCTGCCTTTC	60	27	

参考文献

Abe K (2013) Department of Integrated Biosciences Graduate School of Frontier Science, The university of Tokyo. Thesis for doctoral degree.

Abe K, Yamamoto R, Franke V, Cao M, Suzuki Y, Suzuki MG, Vlahovicek K, Svoboda P, Schultz RM, Aoki F (2015) The first murine zygotic transcription is promiscuous and uncoupled from splicing and 3' processing. *The EMBO journal* **34**: 1523-1537

Akiyama T, Suzuki O, Matsuda J, Aoki F (2011) Dynamic replacement of histone H3 variants reprograms epigenetic marks in early mouse embryos. *PLoS genetics* **7**: e1002279

Alizadeh Z, Kageyama S, Aoki F (2005) Degradation of maternal mRNA in mouse embryos: selective degradation of specific mRNAs after fertilization. *Molecular reproduction and development* **72**: 281-290

Angelov D, Molla A, Perche PY, Hans F, Cote J, Khochbin S, Bouvet P, Dimitrov S (2003) The histone variant macroH2A interferes with transcription factor binding and SWI/SNF nucleosome remodeling. *Molecular cell* **11**: 1033-1041

Ao A, Erickson RP, Winston RM, Handyside AH (1994) Transcription of paternal Y-linked genes in the human zygote as early as the pronucleate stage. *Zygote* **2**: 281-287

Aoki F (1997) Regulation of zygotic gene activation in mammalian embryo. *Journal of Mammalian Ova Research* **14**:125-131

Aoki F, Worrall DM, Schultz RM (1997) Regulation of transcriptional activity during the first and second cell cycles in the preimplantation mouse embryo. *Developmental biology* **181**: 296-307

Araki K, Naito K, Haraguchi S, Suzuki R, Yokoyama M, Inoue M, Aizawa S, Toyoda Y, Sato E (1996) Meiotic abnormalities of c-mos knockout mouse oocytes: activation after first meiosis or entrance into third meiotic metaphase. *Biology of reproduction* **55**: 1315-1324

Aubol BE, Plocinik RM, Keshwani MM, McGlone ML, Hagopian JC, Ghosh G, Fu XD, Adams JA (2014) N-terminus of the protein kinase CLK1 induces SR protein hyperphosphorylation. *The Biochemical journal* **462**: 143-152

Badr H, Bongioni G, Abdoon AS, Kandil O, Puglisi R (2007) Gene expression in the in vitro-produced preimplantation bovine embryos. *Zygote* **15**: 355-367

Banerji J, Rusconi S, Schaffner W (1981) Expression of a beta-globin gene is enhanced by remote SV40 DNA sequences. *Cell* **27**: 299-308

Bauren G, Wieslander L (1994) Splicing of Balbiani ring 1 gene pre-mRNA occurs simultaneously with transcription. *Cell* **76**: 183-192

Beyer AL, Osheim YN (1988) Splice site selection, rate of splicing, and alternative splicing on nascent transcripts. *Genes & development* **2**: 754-765

Blake MC, Jambou RC, Swick AG, Kahn JW, Azizkhan JC (1990) Transcriptional initiation is controlled by upstream GC-box interactions in a TATAA-less promoter. *Molecular and cellular biology* **10**: 6632-6641

Bouniol C, Nguyen E, Debey P (1995) Endogenous transcription occurs at the 1-cell stage in the mouse embryo. *Experimental cell research* **218**: 57-62

Braude P, Bolton V, Moore S (1988) Human gene expression first occurs between the four- and eight-cell stages of preimplantation development. *Nature* **332**: 459-461

Butler JS, Dent S (2012) Taking stock of transcriptional elongation and histones: increased security through decreased exchange. *Nature structural & molecular biology* **19**:863-864

Chang CW, Cheng WC, Chen CR, Shu WY, Tsai ML, Huang CL, Hsu IC (2011) Identification of human housekeeping genes and tissue-selective genes by microarray meta-analysis. *PloS one* **6**: e22859

Changolkar LN, Singh G, Cui K, Berletch JB, Zhao K, Disteche CM, Pehrson JR (2010) Genome-wide distribution of macroH2A1 histone variants in mouse liver chromatin. *Molecular and cellular biology* **30**: 5473-5483

Chen J, Bardes EE, Aronow BJ, Jegga AG (2009) ToppGene Suite for gene list enrichment analysis and candidate gene prioritization. *Nucleic acids research* **37**: W305-311

Clegg KB, Piko L (1982) RNA synthesis and cytoplasmic polyadenylation in the one-cell

mouse embryo. *Nature* **295**: 343-344

Costello JF, Fruhwald MC, Smiraglia DJ, Rush LJ, Robertson GP, Gao X, Wright FA, Feramisco JD, Peltomaki P, Lang JC, Schuller DE, Yu L, Bloomfield CD, Caligiuri MA, Yates A, Nishikawa R, Su Huang H, Petrelli NJ, Zhang X, O'Dorisio MS, Held WA, Cavenee WK, Plass C (2000) Aberrant CpG-island methylation has non-random and tumour-type-specific patterns. *Nature genetics* **24**: 132-138

Cross SH, Bird AP (1995) CpG islands and genes. *Current opinion in genetics & development* **5**: 309-314

de Villiers J, Schaffner W (1981) A small segment of polyoma virus DNA enhances the expression of a cloned beta-globin gene over a distance of 1400 base pairs. *Nucleic acids research* **9**: 6251-6264

Das C, Tyler JK (2013) Histone exchange and histone modifications during transcription and aging. *Biochimica et biophysica acta* **1819**:332-342

Dong J, Albertini DF, Nishimori K, Kumar TR, Lu N, Matzuk MM (1996) Growth differentiation factor-9 is required during early ovarian folliculogenesis. *Nature* **383**: 531-535

Falco G, Lee SL, Stanghellini I, Bassey UC, Hamatani T, Ko MS (2007) Zscan4: a novel gene expressed exclusively in late 2-cell embryos and embryonic stem cells. *Developmental biology* **307**: 539-550

Flach G, Johnson MH, Braude PR, Taylor RA, Bolton VN (1982) The transition from maternal to embryonic control in the 2-cell mouse embryo. *The EMBO journal* **1**: 681-686

Gaspar-Maia A, Alajem A, Meshorer E, Ramalho-Santos M (2011) Open chromatin in pluripotency and reprogramming. *Nature reviews Molecular cell biology* **12**: 36-47

Hamamoto G, Suzuki T, Suzuki MG, Aoki F (2014) Regulation of transketolase like 1 gene expression in the murine one-cell stage embryos. *PloS one* **9**: e82087

Hamatani T, Carter MG, Sharov AA, Ko MS (2004) Dynamics of global gene expression changes during mouse preimplantation development. *Developmental cell* **6**: 117-131

Hanes J, von der Kammer H, Kludiny J, Scheit KH (1994) Characterization by cDNA cloning of two new human protein kinases. Evidence by sequence comparison of a new family of mammalian protein kinases. *Journal of molecular biology* **244**: 665-672

Hashimoto S (2014) Department of Integrated Biosciences Graduate School of Frontier Science, The university of Tokyo. Thesis for master degree.

Henery CC, Miranda M, Wiekowski M, Wilmot I, DePamphilis ML (1995) Repression of gene expression at the beginning of mouse development. *Developmental biology* **169**: 448-460

Ishihama Y, Tadakuma H, Tani T, Funatsu T (2008) The dynamics of pre-mRNAs and

poly(A)⁺ RNA at speckles in living cells revealed by iFRAP studies. *Experimental cell research* **314**: 748-762

John L, Dynan WS (2010) "Nucleic Acids Research." *Nucleic acids research* **38** (7): ii

Kadonaga JT, Tjian R (1986) Affinity purification of sequence-specific DNA binding proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **83**: 5889-5893

Kageyama S, Gunji W, Nakasato M, Murakami Y, Nagata M, Aoki F (2007) Analysis of transcription factor expression during oogenesis and preimplantation development in mice. *Zygote* **15**: 117-128

Katsu R, Onogi H, Wada K, Kawaguchi Y, Hagiwara M (2002) Novel SR-rich-related protein clasp specifically interacts with inactivated Clk4 and induces the exon EB inclusion of Clk. *The Journal of biological chemistry* **277**: 44220-44228

Kawamura M, Akiyama T, Tsukamoto S, Suzuki MG, Aoki F (2012) The expression and nuclear deposition of histone H3.1 in murine oocytes and preimplantation embryos. *The Journal of reproduction and development* **58**: 557-562

Kriwacki RW, Schultz SC, Steitz TA, Caradonna JP (1992) Sequence-specific recognition of DNA by zinc-finger peptides derived from the transcription factor Sp1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **89**: 9759-9763

Lamond AI, Spector DL (2003) Nuclear speckles: a model for nuclear organelles. *Nature reviews Molecular cell biology* **4**: 605-612

Latham KE, Garrels JI, Chang C, Solter D (1991) Quantitative analysis of protein synthesis in mouse embryos. I. Extensive reprogramming at the one- and two-cell stages. *Development* **112**: 921-932

Lawitts JA, Biggers JD (1993) Culture of preimplantation embryos. *Methods in enzymology* **225**: 153-164

Li L, Zheng P, Dean J (2010) Maternal control of early mouse development. *Development* **137**: 859-870

Liang LF, Dean J (1993) Conservation of mammalian secondary sperm receptor genes enables the promoter of the human gene to function in mouse oocytes. *Developmental biology* **156**: 399-408

Lin S, Lin Y, Nery JR, Urich MA, Breschi A, Davis CA, Dobin A, Zaleski C, Beer MA, Chapman WC, Gingeras TR, Ecker JR, Snyder MP (2014) Comparison of the transcriptional landscapes between human and mouse tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **111**: 17224-17229

Liu H, Kim JM, Aoki F (2004) Regulation of histone H3 lysine 9 methylation in oocytes and early pre-implantation embryos. *Development* **131**: 2269-2280

Majumder S, Miranda M, DePamphilis ML (1993) Analysis of gene expression in mouse preimplantation embryos demonstrates that the primary role of enhancers is to relieve repression of promoters. *The EMBO journal* **12**: 1131-1140

Martin C, Zhang Y (2005) The diverse functions of histone lysine methylation. *Nature reviews Molecular cell biology* **6**: 838-849

Mathavan S, Lee SG, Mak A, Miller LD, Murthy KR, Govindarajan KR, Tong Y, Wu YL, Lam SH, Yang H, Ruan Y, Korzh V, Gong Z, Liu ET, Lufkin T (2005) Transcriptome analysis of zebrafish embryogenesis using microarrays. *PLoS genetics* **1**: 260-276

Matsumoto K, Anzai M, Nakagata N, Takahashi A, Takahashi Y, Miyata K (1994) Onset of paternal gene activation in early mouse embryos fertilized with transgenic mouse sperm. *Molecular reproduction and development* **39**: 136-140

Mayer W, Niveleau A, Walter J, Fundele R, Haaf T (2000) Demethylation of the zygotic paternal genome. *Nature* **403**: 501-502

Memili E, First NL (2000) Zygotic and embryonic gene expression in cow: a review of timing and mechanisms of early gene expression as compared with other species. *Zygote* **8**: 87-96

Meneghini MD, Wu M, Madhani HD (2003) Conserved histone variant H2A.Z protects euchromatin from the ectopic spread of silent heterochromatin. *Cell* **112**: 725-736

Meshorer E, Yellajoshula D, George E, Scambler PJ, Brown DT, Misteli T (2006)

Hyperdynamic plasticity of chromatin proteins in pluripotent embryonic stem cells.

Developmental cell **10**: 105-116

Mikkelsen TS, Ku M, Jaffe DB, Issac B, Lieberman E, Giannoukos G, Alvarez P, Brockman

W, Kim TK, Koche RP, Lee W, Mendenhall E, O'Donovan A, Presser A, Russ C, Xie X,

Meissner A, Wernig M, Jaenisch R, Nusbaum C, Lander ES, Bernstein BE (2007)

Genome-wide maps of chromatin state in pluripotent and lineage-committed cells. *Nature*

448: 553-560

Millar SE, Lader E, Liang LF, Dean J (1991) Oocyte-specific factors bind a conserved

upstream sequence required for mouse zona pellucida promoter activity. *Molecular and*

cellular biology **11**: 6197-6204

Minami N, Suzuki T, Tsukamoto S (2007) Zygotic gene activation and maternal factors in

mammals. *Journal of reproduction and development* **53**:707-715

Mito Y, Henikoff JG, Henikoff S (2005) Genome-scale profiling of histone H3.3 replacement

patterns. *Nature genetics* **37**: 1090-1097

Moore GD, Ayabe T, Kopf GS, Schultz RM (1996) Temporal patterns of gene expression of

G1-S cyclins and cdks during the first and second mitotic cell cycles in mouse embryos.

Molecular reproduction and development **45**: 264-275

Moore GP, Lintern-Moore S, Peters H, Faber M (1974) RNA synthesis in the mouse oocyte.

The Journal of cell biology **60**: 416-422

Moreau P, Hen R, Wasyluk B, Everett R, Gaub MP, Chambon P (1981) The SV40 72 base repair repeat has a striking effect on gene expression both in SV40 and other chimeric recombinants. *Nucleic acids research* **9**: 6047-6068

Mortazavi A, Williams BA, McCue K, Schaeffer L, Wold B (2008) Mapping and quantifying mammalian transcriptomes by RNA-Seq. *Nature methods* **5**: 621-628

Naro C, Sette C (2013) Phosphorylation-mediated regulation of alternative splicing in cancer. *International journal of cell biology* **2013**: 151839

Nashun B, Yukawa M, Liu H, Akiyama T, Aoki F (2010) Changes in the nuclear deposition of histone H2A variants during pre-implantation development in mice. *Development* **137**: 3785-3794

Nayler O, Stamm S, Ullrich A (1997) Characterization and comparison of four serine- and arginine-rich (SR) protein kinases. *The Biochemical journal* **326 (Pt 3)**: 693-700

Neugebauer KM, Roth MB (1997) Distribution of pre-mRNA splicing factors at sites of RNA polymerase II transcription. *Genes & development* **11**: 1148-1159

Newport J, Kirschner M (1982) A major developmental transition in early *Xenopus* embryos: II. Control of the onset of transcription. *Cell* **30**: 687-696

Ooga M, Inoue A, Kageyama S, Akiyama T, Nagata M, Aoki F (2008) Changes in H3K79

methylation during preimplantation development in mice. *Biology of reproduction* **78**: 413-424

Park SJ, Komata M, Inoue F, Yamada K, Nakai K, Ohsugi M, Shirahige K (2013) Inferring the choreography of parental genomes during fertilization from ultralarge-scale whole-transcriptome analysis. *Genes & development* **27**: 2736-2748

Piko L, Clegg KB (1982) Quantitative changes in total RNA, total poly(A), and ribosomes in early mouse embryos. *Developmental biology* **89**: 362-378

Prasad J, Colwill K, Pawson T, Manley JL (1999) The protein kinase Clk/Sty directly modulates SR protein activity: both hyper- and hypophosphorylation inhibit splicing. *Molecular and cellular biology* **19**: 6991-7000

Pusarla RH, Bhargava P (2005) Histones in functional diversification. Core histone variants. *The FEBS journal* **272**: 5149-5168

Quinn P, Begley AJ (1984) Effect of human seminal plasma and mouse accessory gland extracts on mouse fertilization in vitro. *Australian journal of biological sciences* **37**: 147-152

Rinn J, Guttman M (2014) RNA Function. RNA and dynamic nuclear organization. *Science* **345**: 1240-1241

Rio DC (1988) Accurate and efficient pre-mRNA splicing in *Drosophila* cell-free extracts. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **85**:

2904-2908

Roeder RG (1996) The role of general initiation factors in transcription by RNA polymerase II. *Trends in biochemical sciences* **21**: 327-335

Sacco-Bubulya P, Spector DL (2002) Disassembly of interchromatin granule clusters alters the coordination of transcription and pre-mRNA splicing. *The Journal of cell biology* **156**: 425-436

Sanford JR, Bruzik JP (1999) Developmental regulation of SR protein phosphorylation and activity. *Genes & development* **13**: 1513-1518

Saxonov S, Berg P, Brutlag DL (2006) A genome-wide analysis of CpG dinucleotides in the human genome distinguishes two distinct classes of promoters. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**: 1412-1417

Schaniel C, Ang YS, Ratnakumar K, Cormier C, James T, Bernstein E, Lemischka IR, Paddison PJ (2009) Smarcc1/Baf155 couples self-renewal gene repression with changes in chromatin structure in mouse embryonic stem cells. *Stem cells* **27**: 2979-2991

Schultz RM (1993) Regulation of zygotic gene activation in the mouse. *BioEssays : news and reviews in molecular, cellular and developmental biology* **15**: 531-538

Sehgal PB, Darnell JE, Jr., Tamm I (1976) The inhibition by DRB (5,6-dichloro-1-beta-D-ribofuranosylbenzimidazole) of hnRNA and mRNA production in

HeLa cells. *Cell* **9**: 473-480

Skirkanich J, Luxardi G, Yang J, Kodjabachian L, Klein PS (2011) An essential role for transcription before the MBT in *Xenopus laevis*. *Developmental biology* **357**: 478-491

Smale ST (1997) Transcription initiation from TATA-less promoters within eukaryotic protein-coding genes. *Biochimica et biophysica acta* **1351**: 73-88

Stern S, Rayyis A, Kennedy JF (1972) Incorporation of amino acids during maturation in vitro by the mouse oocyte: effect of puromycin on protein synthesis. *Biology of reproduction* **7**: 341-346

Suzuki R, Shimodaira H (2006) Pvcust: an R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. *Bioinformatics* **22**: 1540-1542

Suzuki Y, Tsunoda T, Sese J, Taira H, Mizushima-Sugano J, Hata H, Ota T, Isogai T, Tanaka T, Nakamura Y, Suyama A, Sakaki Y, Morishita S, Okubo K, Sugano S (2001) Identification and characterization of the potential promoter regions of 1031 kinds of human genes. *Genome research* **11**: 677-684

Tang F, Barbacioru C, Wang Y, Nordman E, Lee C, Xu N, Wang X, Bodeau J, Tuch BB, Siddiqui A, Lao K, Surani MA (2009) mRNA-Seq whole-transcriptome analysis of a single cell. *Nature methods* **6**: 377-382

Temeles GL, Schultz RM (1997) Transient polyadenylation of a maternal mRNA following

fertilization of mouse eggs. *Journal of reproduction and fertility* **109**: 223-228

Tripathi V, Ellis JD, Shen Z, Song DY, Pan Q, Watt AT, Freier SM, Bennett CF, Sharma A, Bubulya PA, Blencowe BJ, Prasanth SG, Prasanth KV (2010) The nuclear-retained noncoding RNA MALAT1 regulates alternative splicing by modulating SR splicing factor phosphorylation. *Molecular cell* **39**: 925-938

Tsunoda T, Takagi T (1999) Estimating transcription factor bindability on DNA. *Bioinformatics* **15**: 622-630

Wang QT, Piotrowska K, Ciemerych MA, Milenkovic L, Scott MP, Davis RW, Zernicka-Goetz M (2004) A genome-wide study of gene activity reveals developmental signaling pathways in the preimplantation mouse embryo. *Developmental cell* **6**: 133-144

Warner CM, Versteegh LR (1974) In vivo and in vitro effect of alpha-amanitin on preimplantation mouse embryo RNA polymerase. *Nature* **248**: 678-680

Watanabe S (2015) Department of Integrated Biosciences Graduate School of Frontier Science, The university of Tokyo. Thesis for master degree.

Weber CM, Henikoff S(2014) Histone variants: dynamic punctuation in transcription. *Genes & development* **28**:672-682

Weber M, Hellmann I, Stadler MB, Ramos L, Paabo S, Rebhan M, Schubeler D (2007) Distribution, silencing potential and evolutionary impact of promoter DNA methylation in

the human genome. *Nature genetics* **39**: 457-466

Wiekowski M, Miranda M, DePamphilis ML (1991) Regulation of gene expression in preimplantation mouse embryos: effects of the zygotic clock and the first mitosis on promoter and enhancer activities. *Developmental biology* **147**: 403-414

Worrad DM, Ram PT, Schultz RM (1994) Regulation of gene expression in the mouse oocyte and early preimplantation embryo: developmental changes in Sp1 and TATA box-binding protein, TBP. *Development* **120**: 2347-2357

Worrad DM, Schultz RM (1997) Regulation of gene expression in the preimplantation mouse embryo: temporal and spatial patterns of expression of the transcription factor Sp1. *Molecular reproduction and development* **46**: 268-277

Xue Z, Huang K, Cai C, Cai L, Jiang CY, Feng Y, Liu Z, Zeng Q, Cheng L, Sun YE, Liu JY, Horvath S, Fan G (2013) Genetic programs in human and mouse early embryos revealed by single-cell RNA sequencing. *Nature* **500**: 593-597

Yan C, Elvin JA, Lin YN, Hadsell LA, Wang J, DeMayo FJ, Matzuk MM (2006) Regulation of growth differentiation factor 9 expression in oocytes in vivo: a key role of the E-box. *Biology of reproduction* **74**: 999-1006

Yukawa M, Akiyama T, Franke V, Mise N, Isagawa T, Suzuki Y, Suzuki MG, Vlahovicek K, Abe K, Aburatani H, Aoki F (2014) Genome-wide analysis of the chromatin composition of histone H2A and H3 variants in mouse embryonic stem cells. *PloS one* **9**: e92689

Zeng F, Schultz RM (2005) RNA transcript profiling during zygotic gene activation in the preimplantation mouse embryo. *Developmental biology* **283**: 40-57