

P-059

Epigenetic changes in the *SNRPN* gene of cows produced by somatic cell nuclear transferShizuyo Sutou¹, Erika Okada¹, Ayumu Kishimoto¹, Toshiyuki Kudo¹, Takeshige Otoi²¹Shujitsu Univ., ²Yamaguchi Univ.

By combining RNA interference (RNAi) technology with the somatic cell nuclear transfer method (SCNT), we tried to produce BSE (bovine spongiform encephalopathy)-resistant transgenic calves with knocked down prion gene (*PRNP*). When a total of 42 SCNT embryos were embryo-transferred, six recipients were impregnated, resulting in four aborted fetuses, one stillbirth, and one live-born calf. The stillbirth and live-born calves showed a phenomenon known as the large offspring syndrome (LOS). Epigenetic changes were expected; CpG islands of the *SNRPN* gene were investigated at first for differential methylation patterns between the SCNT embryos and cows and the negative control cow. DNA was isolated from the spleen, muscle, or skin and treated with Bam HI and RNase. DNAs were treated with bisulfite, cloned into a plasmid vector, and sequences of cloned plasmid DNAs were determined. Almost 100% C's other than CpG islands were changed to T's, but C to T transitions in CpG islands varied much. C's in CpG islands of SCNT calves and embryos showed a tendency of higher methylation patterns as compared with the control, suggesting involvement of epigenetic changes in LOS.

体細胞核移植法で産まれたウシの*SNRPN*遺伝子におけるエピジェネティックな変化須藤 鎮世¹, 岡田 絵里加¹, 岸本 歩¹, 工藤 季之¹, 音井 威重²¹就実大学, ²山口大学

RNA干渉 (RNAi) 技術と体細胞核移植法 (SCNT) を利用して、ウシプリオン遺伝子 (*PRNP*) をノックダウンした伝達性海綿状脳症に抵抗性のウシの産出を試みた。42個の胚を移植したところ、6頭が妊娠し、そのうち4頭が流産、1頭は死産、1頭が生誕した。死産・生誕ウシはともに巨大胎子症候群 (LOS) として知られる現象を示した。エピジェネティックな変化が予想されたので、まず、SCNT胚・仔ウシおよび対照仔ウシの*SNRPN*遺伝子におけるCpGアイランドのメチル化の様相を調べた。脾、筋、あるいは皮膚からDNAを単離し、Bam HIとRNaseで処理した。DNAをバイサルファイトで処理し、プラスミドベクターにクローニングし、クロンDNAの塩基配列を調べた。CpGアイランド以外のCはほぼ100%Tに変換されたが、CpGアイランドにおけるCからTへの転位は大きくばらついた。しかし、対照仔ウシに比べSCNT胚・仔ウシではより高いメチル化のパターンを示す傾向がみられた。このことは、エピジェネティックな変化がLOSに寄与していることを示唆する。

P-060

MicroRNA dysregulation in nasopharyngeal carcinomaShumin Wang¹, Yingxi Mo¹, Kaoru Midorikawa¹, Zhe Zhang², Guangwu Huang², Ning Ma³, Yusuke Hiraku¹, Shinji Oikawa¹, Mariko Murata¹¹Dept. Environ. Mol. Med., Mie Univ. Grad. Sch. Med.,²Dept. Otolaryngol.-Head & Neck Surgery, Guangxi Med.Univ., ³Fac. Health Sci., Suzuka Univ. Medical Sci.

Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a malignancy with strong association of Epstein-Barr virus (EBV) infection, and endemic in southern areas of China. To explore the mechanisms of NPC development and certain biomarkers for screening NPC, a microarray profiling survey was performed to reveal the expression patterns of human microRNA(miRNA)s across primary tumors (NPC) and normal nasopharyngeal epithelia (NNE). Exploring microarray analyses demonstrated several miRNAs dysregulated in NPC. Quantitative real-time PCR confirmed that expression levels of the miRNAs were significantly different between NPC and NNE tissues. Among up-regulated miRNAs, several EBV encoded miR-BARTs(ebv-miR-BARTs) were highly detected in NPC tissues. The levels of miRNAs including ebv-miR-BARTs in blood samples are under study for biomarker research. Our results suggest that up- and down-regulated miRNAs may play a role in NPC development and further studies are required to apply to use as biomarkers and novel targets for NPC treatment.

上咽頭癌におけるmicroRNA調節異常の検討王 淑民¹, 莫 穎禧¹, 翠川 薫¹, 張 哲², 黄 光武², 馬 寧³, 平工 雄介¹, 及川 伸二¹, 村田 真理子¹¹三重大学大学院医学系研究科環境分子医学, ²中国広西医科大学耳鼻咽喉科頭頸部外科学, ³鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

上咽頭癌 (NPC) はEpstein-Barr virus (EBV) の感染と強く関連する癌であり、中国南部で発生率が高い。NPC発症の機構解明およびスクリーニングのためのバイオマーカーの探索を目指して、NPCと正常上咽頭 (NNE) の生検組織を用いてmicroRNA(miRNA) のマイクロアレイ解析を行った。その結果、有意に発現差のあったmiRNAsが検出された。定量的リアルタイムPCRにより、NPCとNNEで有意に差があるmiRNAsを明らかにした。発現上昇の見られたmiRNAsのうち、EBV encoded miR-BARTs (ebv-miR-BARTs) はNPC組織において非常に強く発現していた。スクリーニングのためのバイオマーカー候補としてebv-miR-BARTsを含むmiRNAsについて血液試料中での発現量を現在検討中である。miRNAs発現の増加あるいは減少が上咽頭癌発症に寄与することが示唆され、詳細な機構の解明やバイオマーカーあるいは上咽頭癌治療の新しいターゲットに応用するため、今後さらなる検討が必要である。