

審査の結果の要旨

氏名 船屋智史

本論文は、受精前後におけるクロマチン構造の大規模な変化（クロマチンリモデリング）を調節するメカニズムの解明を目的としたものである。実験動物としてマウスを用いて、体細胞でクロマチン構造の調節に重要な働きをしていることが知られているリンカーヒストン H1 とコアヒストン H3 の変異体に着目し、これらのクロマチンリモデリングへの関与を解析した。全体は2章からなり、以下のような内容となっている。

第1章では、リンカーヒストン H1 について解析を行った。まず、RNA シーケンスデータにより、着床前初期発生における全リンカーヒストン変異体の発現挙動を解析したところ、リンカーヒストン変異体 H1foo は1細胞期で高く発現しており、1から2細胞期にかけて急激な発現減少が見られた。そこで、siRNAにより H1foo をノックダウン(KD)してクロマチン構造の解析を行ったところ、H1foo を KD した1細胞期胚の雄性前核においては緩いクロマチン構造が失われていることが示唆された。また、H1foo を過剰発現させた2細胞期胚においてはコントロールの胚と比較して1から2細胞期にかけて緩んだクロマチン構造が維持されていた。これらの結果より、H1foo は1細胞期胚の雄性前核における緩いクロマチン構造に関与していること、また1、2細胞期胚における H1foo の核局在量の急激な減少により、クロマチン構造が締まることが示唆された。また、H1foo を KD した胚では1細胞期胚での DNA 複製の完了に遅れが見られ、その結果1細胞期から2細胞期への卵割のタイミングが遅延していた。これらの結果より、H1foo はクロマチン構造を緩めることで DNA 複製を速やかに進行させる働きがあることが示唆された。

第2章では、コアヒストンである H3 について解析を行った。主な H3 変異体として H3.1/3.2 および H3.3 が知られている。H3.1/3.2 は締まったクロマチン構造に関与するヒストン修飾を受けやすいことが明らかとなっている。またこれまでの研究により、H3.1/3.2 は1細胞期胚において核局在量が少なく、1から2細胞期にかけて核局在量が急激に増加することが報告されている。そこで、siRNA を用いて2細胞期胚での H3.1/3.2 の KD を行ない、クロマチン構造解析を行なった。その結果、H3.1/3.2 を KD した2細胞期胚は、1から2細胞期にかけて緩いクロマチン構造が維持されていた。この結果より1から2細胞期にかけて、H3.1/3.2 の核局在量が増加することにより締まったクロマチン構造が形成されることが明らかになった。1から2細胞期の急激なクロマチン構造変化は、この時期の遺伝子発現変化に大きく関与すると考えられている。すなわち千数百の遺伝子において、1から2細胞前期にかけて発現量が増加し、2細胞後期では発現量が減少するという一過的な発現が見られる。そこで、このような発現パターンを示す *Eif1a*、*Zfp352*、*Zscan4d* の発現を RT-PCR を用いて解析した。その結果 H3.1/3.2 を KD した胚では、これらの遺伝子は1から2細胞後期にかけて、その発現量の減少がコントロールと比較して小さくなっていった。またに遺伝子だけではなくレトロトランスポゾンのものである LINE も1から2細胞前期における一過的な発現が見られるが、H3.1/3.2 を KD した2

細胞後期では、他の遺伝子同様に発現量の減少割合が低下していた。これらの結果より、1 から 2 細胞期胚にかけてクロマチンに取り込まれる H3.1/3.2 は、2 細胞後期におけるいくつかの遺伝子やレトロトランスポゾンの発現抑制に関与することが示唆された。最後に H3.1/3.2 の KD が着床前初期発生に与える影響を解析したところ、H3.1/3.2 を KD した胚はコントロール胚と比較して 2 細胞期以降の胚発生率が減少していた。このことから 2 細胞期における H3.1/3.2 のクロマチンへの取り込みは、着床前初期発生に重要であることが示された。

以上より、1 細胞期胚では緩いクロマチン構造に関与する H1foo や H3.3 が多く核局在しており、一方で締まったクロマチン構造に関与する H3.1/3.2 の核局在量が少ないことが明らかにされた。そして、これらにより 1 細胞期胚の緩いクロマチン構造が形成されていることが示唆された。さらに、1 から 2 細胞期にかけて H1foo の核局在量が急激に減少し、一方で体細胞型リンカーヒストン変異体や H3.1/3.2 の核局在量が増加することにより締まったクロマチン構造が形成されること、またそれにより一部の遺伝子の発現が抑制されることが示唆された。本研究により、1、2 細胞期胚におけるクロマチンリモデリングの制御機構の一端を明らかとなり、このクロマチンリモデリングにより 1、2 細胞期胚の遺伝子発現の一部が制御されていることが示された。このように、本論文は、受精前後におけるクロマチンリモデリングの調節機構とその機能の解明に大きく寄与するものであると考えられる。

なお、本論文第 1 章は、大我正敏、鈴木雅京、青木不学との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

よって本論文は博士（生命科学）の学位請求論文として合格と認められる。

以上 1 9 9 9 字