

# 審査の結果の要旨

氏名 月岡大

本論文は、コアヒストン H2A の変異体である TH2A と H2A.X の発生への役割を明らかにすることを目的とし、それぞれの遺伝子を欠損したマウスを作成しその発生を解析したものである。全体は 3 章からなり、以下のような内容となっている。

まず第 1 章では、CRISPR/Cas9 システムを用いて TH2A の遺伝子を破壊したマウスを作成し、その発生について解析を行った結果を記した。まず TH2A 遺伝子をヘテロに欠損したマウス同士を交配したところ、正常マウスの交配で得られる理論値にほぼ近い割合でホモ欠損マウスが誕生したことから、受精後の発生に TH2A が必要でないことが分かった。しかし、ホモ欠損雌マウスを正常雄マウスと交配した際には誕生数が減少していたことから、TH2A の欠損により雌マウスの生殖能力が低下することが明らかとなった。しかし、TH2A 欠損による卵形成や子宮機能の異常は見られなかった。そして卵由来の母性 TH2A を欠損した 1 細胞期胚においてエピジェネティック修飾である DNA のメチル化レベルや H3K27me3 レベルの減少が見られたが、着床前発生の異常は見られなかった。影響が見られたこれらエピジェネティック修飾はインプリンティングを含む遺伝子発現制御に関与し、また着床以前でこれらエピジェネティック修飾に影響があると着床後の発生不良が起こることが報告されていることから、TH2A 欠損による雌の生殖能力の低下は着床以前の DNA のメチル化と H3K27me3 の異常による着床後の発生不良が原因であると考えられた。

次に第 2 章では、H2A.X の発生における役割を解析した。H2A.X 欠損マウスの解析により、その欠損は着床後発生期で致死を起こし、また体重の減少や眼球の形成異常も引き起こすことが明らかになった。H2A.X 欠損によるこれら表現型の有無は、遺伝背景に依存して変化することが明らかになり、遺伝背景によってマウス発生への H2A.X の寄与の強度は異なることが示された。また、母性 H2A.X 欠損胚は、胚盤胞期胚まで発生したことから、母性 H2A.X は着床前発生に関与していないことが示唆された。

第 3 章では、母性の TH2A と H2A.X の両方を欠損したマウスから得られた卵を受精させ、その着床前初期発生を調べた。すなわち、着床前初期胚である 1 細胞期胚では TH2A と H2A.X は核に多く局在しており、着床前発生期において互いに機能を補償し合っていることが考えられたからである。その結果、母性の TH2A と H2A.X の両方を欠損することで発生不良が起きることが明らかとなった。発生不良が起きた原因を明らかにするため、1 細胞期胚における他のヒストン変異体の核局在量、クロマチン構造の緩みと遺伝子発現への影響を解析した。母性 TH2A 欠損や母性 H2A.X 欠損胚では見られなかったが、両欠損胚において H3 変異体 H3.1/H3.2 と H3.3 の核局在量が減少しており、総ヌクレオソーム数が減少していることが示唆された。クロマチン構造の緩みの解析では母性 H2A.X のみがクロマチン構造を緩める機能を持つことが明らかとなった。さらに、遺伝子発現解析では母性 TH2A が遺伝子間領域からの転写の促進に関与していることが示された。しかし、クロマチン構造の緩みと遺伝子発現の解

析では両欠損胚特異的な影響は見当たらなかった。これらの結果から TH2A は少なくとも遺伝子間からの転写の促進に、一方で H2A.X は緩いクロマチン構造の形成に関与しそれぞれ異なる作用を持つことが示されたことから 1 細胞期胚において TH2A と H2A.X は必ずしも互いに機能を補償し合っているわけではないことが示唆された。また、母性 TH2A/H2A.X 欠損による発生不良は、総ヌクレオソーム数の減少や母性 TH2A または母性 H2A.X の欠損によるそれぞれの影響が両欠損胚において重なった結果によって生じたものと考えられた。本研究において、TH2A と H2A.X は様々な発生のプロセスに寄与していることが明らかとなった。

これらの結果は、H2A 変異体の発生への役割について多数の新たな知見を加えたものであり、発生を調節するメカニズムの解明に大きく寄与するものであると考えられる。

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 1608 字