

# 論文審査の結果の要旨

氏名 山本 龍馬

本論文は、マウス胚を用いて受精後最初期に発現する遺伝子を特定し、その転写制御機構を明らかにしたものである。全体は3章からなり、以下のような内容となっている。

第1章では、RNAシーケンスにより1細胞期に転写される遺伝子を網羅的に同定することを試みた。その最初のステップとして、まず受精前の卵で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23個特定した。次に、RNAシーケンスによりこれらの遺伝子上のどの領域が読み取られているかを調べたところ、1細胞期において、23遺伝子はすべてエクソン領域だけでなくイントロン領域も一様に読まれていることが確認された。これは、1細胞期での転写産物がスプライシングを受けていないことを示唆していた。そこで、1細胞期ではスプライシング機構が働いていないことを確認するために、ショウジョウバエ *ftz* 遺伝子の pre-mRNA を成長期卵、1細胞期胚そして2細胞期胚の核にそれぞれ顕微注入した。その結果、成長期卵および2細胞期胚では成熟 mRNA の位置に明瞭なバンドが現れたのに対し、1細胞期胚ではほとんど現れなかった。したがって、1細胞期胚ではスプライシング機構が十分に働かないことが明らかとなった。これにより、イントロンの発現量に注目することで母性 mRNA と1細胞期由来の転写産物を区別することが可能となった。そこで、1細胞期に転写される遺伝子を網羅的に同定するために、1細胞期胚においてイントロン上のリード数が未受精卵と比較して3倍以上増加しているものを選択した結果、1細胞期で転写される遺伝子として4575特定することができた。

第2章では、第1章で得られた遺伝子を用いて1細胞期胚における遺伝子発現の特徴を明らかにすることを試みた。まず、未受精卵、1細胞期胚以降の着床前初期胚、そして複数の組織細胞のトランスクリプトームデータより、それぞれの遺伝子発現パターンを比較した。その結果、遺伝子発現パターンは大きく3つのクラスターに分類され、1細胞期胚は独立して1つのクラスターを形成していた。この結果より、1細胞期胚における遺伝子発現パターンは、非常にユニークであると考えられた。すなわち、他の種類の細胞では発現していない、もしくは発現量が低い遺伝子の多くが高発現していると考えられた。これを確かめるために、1細胞期胚を含む着床前初期胚間、または1細胞期胚および複数の組織細胞間において特異的に高発現している遺伝子の割合を比較した。その結果、1細胞期胚を除く着床前初期胚および組織細胞では、特異的に高発現している遺伝子はすべて30%未満であった。一方で、1細胞期胚では、その割合はおよそ50%を占めていた。さらに、卵母細胞、着床前初期胚そして組織細胞間の80%以上で共通して高発現しているハウスキーピング遺伝子のリストを作成し、各細胞内におけるこれらの遺伝子の割合を比較した。その結果、80%以上の遺伝子が、2細胞期胚以降の着床前初期胚および組織細胞において共通して発現していたのに対し、1細胞期胚ではおよそ30%のみであった。以上の結果をまとめると、1細胞期胚では他の細胞では発現していない遺伝子が多く高発

現しており、一方では他の種類の細胞では高発現しているハウスキーピング遺伝子の割合が低く、その結果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。

第 3 章では 1 細胞期胚における転写制御機構の解明を試みた。まず、プロモーター領域の解析により、1 細胞期胚におけるユニークな遺伝子発現パターンを形成するために、特異な転写制御機構が働いているかどうかの確認を行った。初めに、様々な既知のエレメントをプロモーター領域に持つ遺伝子の割合を比較した。その結果、何れのエレメントにおいても、1 細胞期胚にのみ見られる目立った特徴は確認できず、他の細胞種と同じ割合で存在していた。次に、1 細胞期胚に特徴的な新規プロモーターエレメントを探索するために、6 bp の配列を用いた k-mer 解析を行った。その結果、1 細胞期胚を含むすべての細胞種で共通して、G/C リッチなエレメントを上流領域に持つ遺伝子が多く存在しており、1 細胞期胚特異的な配列は発見されなかった。以上の結果より、1 細胞期胚においてのみ転写を調節するような特異的なエレメントは存在しない可能性が示された。

以上、本研究により、これまでまったく明らかにされていなかった受精後最初期の遺伝子発現を調節するメカニズムについて重要な知見を得ることができたものと考えられる。

なお、本論文第 2 章および第 3 章は、阿部健一郎、鈴木穰、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。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 2000 字