

1、2細胞期胚におけるクロマチンリモデリングへの リンカーヒストンバリエント H1foo の関与

2017年3月修了 156349 先端生命科学専攻 船屋 智史 指導教員: 青木不学 教授

[キーワード] 着床前初期胚発生、クロマチンリモデリング、H1foo、H3.1/3.2

[序論]

受精後の1細胞期胚は全能性を有しており、その後発生とともに分化能は失われて行く。この着床前初期胚発生の過程、特に1から2細胞期胚にかけて、クロマチン構造に関わるエピジェネティックな因子が劇的に変化する。この現象はクロマチンリモデリングと呼ばれており、着床前初期胚発生の進行に重要であると考えられている。クロマチンリモデリングの過程で起こる現象の1つとしてクロマチン構造の緩みが変化することが知られている。Fluorescence Recovery after Photobleaching (FRAP)法を用いた解析

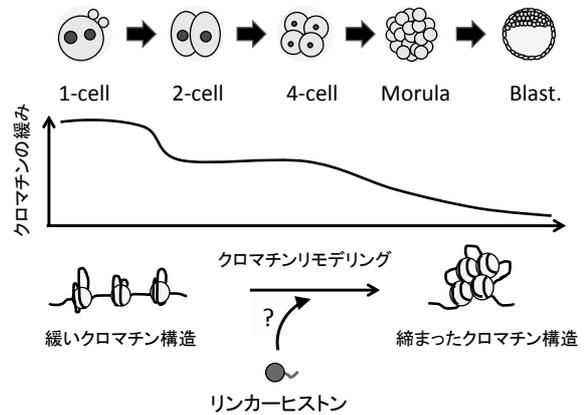


Fig. 1 初期発生過程におけるクロマチンリモデリング。

によって1細胞期胚は体細胞と比較して緩いクロマチン構造を持ち、1から2細胞期胚にかけてクロマチン構造が急激に締め、その後、さらに発生とともに徐々に締められたクロマチン構造へと変化していくことが明らかとなっている。しかしながら、この1から2細胞期胚におけるクロマチン構造変化の制御機構や生物学意義については明らかになっていない。クロマチン構造は、コアヒストン8量体にDNAが巻き付いたヌクレオソームと、ヌクレオソーム間のDNAに結合するリンカーヒストンで構成されている。リンカーヒストンはクロマチンの高次構造に深く関与する事が知られており、マウスでは、異なる遺伝子からコードされる11種類のバリエントが存在するが、1、2細胞期胚におけるクロマチン構造の変化への関与は明らかになっていない(Fig.1)。そこで本研究では1、2細胞期胚におけるクロマチンリモデリングへのリンカーヒストンバリエントの関与について解析を行なった。

[結果・考察]

着床前初期発生期における各リンカーヒストンバリエントの発現変化の解析

RNAシーケンス解析のデータを用い、着床前初期胚における11種類のリンカーヒストンバリエントの発現パターンを解析した。その中で、H1fooは1細胞期胚で高発現しており、2細胞期胚で急激に発現量が減少していた。このことから1、2細胞期胚におけるクロマチン構造の変化についてH1fooに着目して解析を行なうことにした。

1細胞期胚におけるH1fooのクロマチン構造への関与

1細胞期胚の緩いクロマチン構造にH1fooが関与しているかどうかを調べるために、H1fooをノックダウン(KD)した1細胞期胚(H1foo-KD-1 cell)においてeGFP-H2Bを用いたFRAP法による解析を行った。その結果、H1foo-KD-1 cellの雄性前核において緩いクロマチン構造が失われていた(Fig.2)。このことからH1fooは1細胞期胚の雄

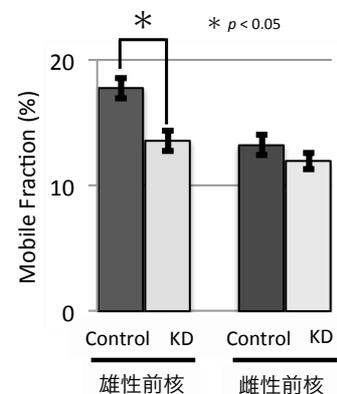


Fig. 2 1細胞期胚におけるH1foo KDのクロマチン構造の緩みへの影響。

性前核での緩いクロマチン構造に寄与していることが示唆された。

1、2細胞期胚におけるクロマチン構造変化への H1foo の関与

先行研究において、2細胞期以降、H1foo の発現が急速に減少し核局在がほとんど見られなくなること、そして1から2細胞期にかけてクロマチン構造が締まることが報告されている。そこで1、2細胞期胚におけるクロマチン構造の変化への H1foo の関与について解析するため、H1foo を過剰発現させた2細胞期胚においてFRAP法を用いて解析を行なったところ、コントロールと比較して1から2細胞期胚にかけて比較的緩いクロマチン構造が維持されていた (Fig.3)。このことから、1から2細胞期胚にかけて、H1foo の核局在量が減少することにより、クロマチン構造が締まることが示唆された。

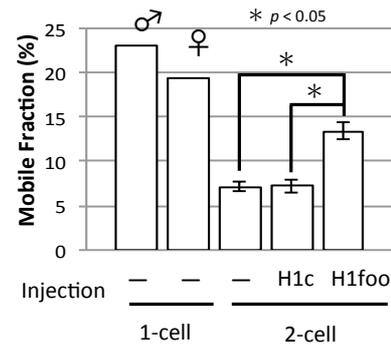


Fig. 3 2細胞期胚におけるH1foo過剰発現のクロマチン構造への影響. -はeGFP-H2Bのみのインジェクションを示す.

H1foo-KD-1 cell における H3 バリエーションの局在解析

H1foo が緩いクロマチン構造に関与するメカニズムを明らかにするため、H1foo-KD-1 cell において、クロマチン構造に深く関与する事が知られているコアヒストンH3バリエーションの局在量を解析した。その結果、H1foo-KD-1 cell において雄性前核、雌性前核両方の核において H3.1/3.2 の局在量が増加していることが明らかとなり (Fig.4)、1細胞期胚において H1foo は H3.1/3.2 の核局在を抑制している可能性が示された。

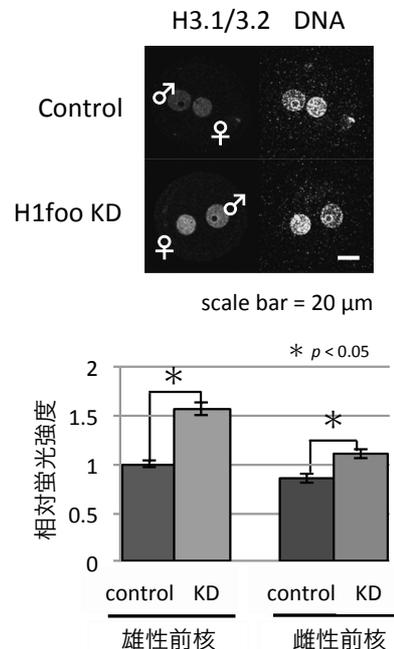


Fig. 4 H1foo KD による H3.1/3.2 の核局在への影響.

着床前初期胚発生への H1foo の関与

H1foo の KD が着床前初期胚発生に与える影響を解析したところ、H1foo を KD した胚では胚盤胞期胚までの発生率がコントロールと比較してわずかに減少していたが、有意差は見られなかった。このことから H1foo を KD した胚では、緩いクロマチン構造に関与する他の因子が H1foo の機能を補償したため、発生には影響を与えなかったと考えられる。

[結論]

H1foo は1細胞期胚の雄性前核において緩いクロマチン構造に関与していること、1から2細胞期胚にかけて H1foo の核局在量が減少する事によってクロマチン構造が締まる事が示唆された。また H1foo が1細胞期胚の緩いクロマチン構造に関与するメカニズムの1つとして H3.1/3.2 のクロマチンへの取り込みを抑制していることが考えられる。以上、本研究において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にした。また、H1foo が H3.1/H3.2 のクロマチンへの取り込みを抑制するという結果は、リンカーヒストンがコアヒストンの構成に関与することを初めて示した知見となっている。