

# 論文審査の結果の要旨

氏名 河村 真愛

本論文は、マウスの 1 細胞期胚において卵および精子由来のゲノムから構成される雌雄前核の性質の違いについて、その生理的意義とメカニズムの解明を試みたものである。受精直後の 1 細胞期胚では、卵由来のゲノムと精子由来のゲノムが混ざり合うことなく、それぞれ独立して前核と呼ばれる核を形成する。これらの核は、互いに転写あるいは DNA 複製のパターンが異なっていることが知られており、さらにクロマチン構造が異なっていることが示唆されているが、その生理的意義とその違いを生み出すメカニズムはこれまでまったく明らかにされていない。本研究は、ヒストン H3 の変異体に着目し、その解明を試みるものである。ヒストン H3 には主に H3.1、H3.2 そして H3.3 という 3 種類の変異体が存在する。これらは、互いにアミノ酸配列が非常に類似しているが、異なる機能を持つことが示唆されている。例えば、H3.1 および H3.2 はヘテロクロマチンと呼ばれる DNA 密度の高い領域に局在し、H3.3 は、DNA 密度の低いユークロマチンに局在する。これまでに H3 変異体の局在および機能について、後期の着床前初期胚では明らかにされてきているが、1 細胞期胚においてほとんど明らかにされていない。

第 1 章では、まず、受精後の初期胚における H3 変異体の局在を免疫染色法により解析した。その結果、H3.3 は初期発生過程において常に核局在が検出されたものの、H3.1/H3.2 は 1 細胞期胚において核局在が殆ど見られなかった。しかしながら、検出シグナルを上昇させて解析したところ、H3.1/H3.2 は、1 細胞期胚の雌性前核においては主に核小体付近に局在し、雄性前核では核小体以外の領域に局在していることがわかった。このように雌雄前核間で H3.1/H3.2 の局在が異なることが明らかになったが、これまでの報告では、核小体付近のヘテロクロマチン構成および DNA 複製パターンが雌雄性前核間で異なることが報告されており、これらに H3.1/H3.2 の局在が関与していることが考えられた。

1 細胞期胚において H3.1 および H3.2 がクロマチンに取り込まれない原因として、この時期において H3.1/H3.2 の発現量が低いということ、さらには H3.1/H3.2 のヒストンシャペロンによるクロマチンへの取り込み効率が低いことが考えられる。そこでまず、RNA シーケンスのデータベースを用いて初期胚における H3 変異体 mRNA の発現量比を算出したところ、1 細胞期胚において H3.1、H3.2 の発現量が H3.3 の発現量と比較して低いことがわかった。次いで 2 つ目の可能性を検証するために、1 細胞期胚に H3 変異体をコードする mRNA を顕微注入し、H3 変異体タンパク質のクロマチンへの取り込み効率を解析した。その結果、30 ng/μl 以下の濃度で顕微注入した場合は、H3.3 と比較し

て H3.1、H3.2 の取り込み効率が有意に低いことが明らかになった。以上、これらの結果を総合すると、1 細胞期胚のクロマチンにおける H3.1、H3.2 の局在量が低レベルとなっている原因は、これらの発現量が低いこと、およびヒストンシャペロンによる取り込み効率が低いことの両方であることが示唆された。

第 2 章では、H3 変異体を過剰発現させて、これらの蛋白質を 1 細胞期胚の前角に取り込ませ、その後の発生、DNA 複製を調べた。その結果、H3.3 を過剰発現させた胚では、発生、DNA 複製に異常は見られなかったが、H3.1 あるいは H3.2 を過剰発現させた胚では、1 細胞期における DNA 複製の遅れと着床前初期発生期での発生の遅れが観察された。DNA 複製についてさらに受精後の時間を細かく区切って調べた結果、H3.1 あるいは H3.2 の過剰発現胚において、雌雄前核ともに核質にある DNA の複製には異常は見られなかったが、雄性前核の核小体付近に局在する pericentromeric heterochromatin にのみ DNA 複製の顕著な遅れが観察された。尚、この時、heterochromatin 形成に関与する H3K9me3 および H3K27me3 には変化が見られなかった。

これらの結果をまとめると、雄性前核への H3.1、H3.2 の局在は発生に悪影響を及ぼすことから、これらの発現量を低下させるとともに取り込み効率を下げることでその悪影響を防ぐというメカニズムが 1 細胞期胚で機能しているものと考えられる。

以上のように、本論文は、1 細胞期胚での雌雄前核の性質の違いについての生理的意義とこれを生み出すメカニズムを明らかにし、受精直後における胚発生の調節機構の解明に大きく寄与するものであると考えられる。

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 1736 字