

# 論文審査の結果の要旨

氏名 中村 遼平

本論文は3章からなる。第1章はメダカの未分化細胞（胞胚期の細胞）におけるクロマチン修飾状態について述べられている。特に、遺伝子の転写に対して抑制的に働くヒストン修飾であるH3K27me3を持つDNA低メチル化領域について詳細に解析している。このようなDNA低メチル化領域は発生関連遺伝子のプロモーター領域に高頻度で存在しているが、DNA低メチル化領域のサイズによって標識される発生関連遺伝子の種類が異なることを明らかにした。特に、発生に重要な転写因子をコードする遺伝子座には巨大な(>4 Kb) DNA低メチル化領域が存在し、低メチル化領域のサイズがH3K27me3の蓄積量と相関していることを示した。従って、このような転写因子の発現は通常の発生関連遺伝子よりも強力に抑制されていることが示唆された。さらに、ヒトの未分化細胞であるES細胞のデータと比較することで、巨大なDNA低メチル化領域とその抑制的な性質が脊椎動物種間において未分化状態の細胞で保存されていることを明らかにした。一方で、メダカとヒトで異なるクロマチン修飾状態となっている遺伝子も同定し、それらの一部は神経細胞で重要な機能を持つ遺伝子群であることを明らかにした。第2章では、メダカの成体組織において、第1章で同定した巨大なDNA低メチル化領域がどのように変化し遺伝子発現に影響を与えるかを解析している。転写因子*zic1*をコードする遺伝子座に着目することで、孵化後に巨大なDNA低メチル化領域が縮小することを明らかにした。このDNA低メチル化領域の縮小は*zic*遺伝子の発現に依存して起こることも、*zic*変異体を用いて示した。さらに、この現象は成体の筋節、肝臓において発現量の高い遺伝子座で一般的に起こることを示し、遺伝子発現の長期的な維持に寄与している可能性について考察している。第3章ではDNA低メチル化領域の配列的特徴を解析している。まずDNA低メチル化領域の境界にはクロマチンタンパクCTCFの結合配列が高頻度で存在していることを示した。次に、教師有り機械学習アルゴリズムの一つであるサポートベクターマシンを用いることで巨大なDNA低メチル化領域には特定の配列が高頻度で並んでいることを示した。さらに、この特定の配列は発生関連遺伝子のエクソンにも存在することを明ら

かにし、ノンコーディング領域だけでなくエクソン領域がエピジェネティックなクロマチン状態の制御に寄与している可能性を示した。

本論文は、発生を制御する重要な転写因子をコードする遺伝子座に存在する巨大な低メチル化領域の未分化細胞および成体組織における性質を詳細に記載した。その結果、この特殊なゲノム領域が未分化細胞では転写因子の発現を強く抑制することで未分化状態を維持し、成体組織ではサイズが縮小し発現を維持することで分化状態の長期的な維持に寄与していることが示唆された。巨大な低メチル化領域の機能について生物学的な意義付けをした研究は過去にはなかったが、本論文は DNA 低メチル化領域の大きさが転写抑制と相関することを初めて明らかにした。また、このゲノム領域のクロマチン修飾状態が脊椎動物の発生過程において細胞の分化能や分化状態を規定するエピジェネティックな要素として有力な候補の一つであることを示すものである。さらに、DNA 低メチル化領域の配列的特徴についての解析から、遺伝子のエピジェネティックな修飾状態がタンパク質をコードするエクソンによっても制御され得ることが示唆された。これは、転写制御においてはゲノムの非コード領域が重要であるという従来の考えとは異なる新しい知見である。従って、本論文は転写制御や細胞分化の分子メカニズムの一端を解明するものである。

なお、本論文の一部は武田洋幸、森下真一、塚原達也、曲薇、市川和樹、大塚堯慶、生越克己、斉藤太郎、松島綱治、菅野純夫、橋本真一、鈴木穰との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および考察を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断される。したがって、論文提出者には博士（理学）の学位を授与できると認める。