

論文審査の結果の要旨

氏名 阿部 健一郎

本論文は、マウス胚における受精後に起こる最初の遺伝子発現の機能とその調節機構を明らかにしたものである。全体は2章からなり、以下のような内容となっている。

第1章では、受精後の最初の遺伝子発現である minor zygotic gene activation (ZGA) の機能を明らかにするために、可逆的な転写阻害剤である DRB により minor ZGA のみを抑制し、その際の胚発生に与える影響を検証した。1細胞期の G1 期から2細胞期の DNA 複製期前までの間、DRB 存在下で培養し、DRB を除去した後の発生を観察した。するとコントロールの DMSO 未処理群では90%以上が受精後96時間で胚盤胞に到達したのに対し、DRB 処理群では60%以上の胚が2細胞期で発生が停止しており、胚盤胞に到達した胚はほとんど見られなかった。一方、2細胞期中頃から4細胞期にかけて起こる大規模な転写の活性化(major ZGA)を DRB 処理により一時的に阻害したところ、受精後96時間で2細胞期の胚はほとんど見られず、約30%が胚盤胞に到達しており、その他の胚も minor ZGA 阻害時に比べて発生が進行していた。この結果より、適切な時期に minor ZGA が起こることがその後の発生に必須であり、さらに一時的な阻害時に見られる影響は major ZGA よりもむしろ minor ZGA の方が大きいことが示された。

minor ZGA の一時的阻害が2細胞期での発生停止を引き起こした原因として、minor ZGA を DRB 処理で抑制することにより、その後 DRB を取り除いても適切な時期に minor ZGA が起こらずに、major ZGA に異常が生じたことが考えられる。この仮説を検証するために、RT-PCR により DRB 処理後の胚における minor ZGA および major ZGA 遺伝子の発現を調べた。その結果、DRB 処理後の胚では minor ZGA 遺伝子の多く(4個中3個)が DRB 除去後も発現が抑制されたままであった。その一方で、major ZGA 遺伝子は6個中4個が DRB 処理後の2細胞期胚においてもコントロール群と同様に発現が見られたものの、*Lta*, *Sowaha* の2つの遺伝子は発現が抑制されていた。すなわちこの結果は、一旦抑制された minor ZGA が再び発現することはなく、これにより一部の major ZGA 遺伝子の発現が抑制されたことを示している。以上より、minor ZGA は時期特異的に発現しており、major ZGA を引き起こす役割があることが明らかになった。

第2章では、minor ZGA の制御機構を解明するため、RNA-seq により minor ZGA で転写される領域を網羅的に解析し、それらの領域の特徴から転写制御機構を明らかにすることを試みた。まず RNA-seq により読まれた領域をゲノムブラウザ上で概観したところ、1細胞期胚では未受精卵と比較して非遺伝子領域が顕著に転写されている傾向が見られた。そこで、未受精卵および他のステージの胚において発現が見られた非遺伝子領域の数を比較したところ、受精前と比較して受精直後の1細胞期胚ではその数が大幅に増加するが、発生を経る過程で徐々に減少していくことが明らかになった。従って minor ZGA では数多くの非遺伝子領域を転写するという、特殊な転写制御機構が働いているこ

とが示された。

1 細胞期胚において転写される非遺伝子領域の特徴を明らかにするために、発現が見られた領域の周囲の塩基配列を解析した。これまでに 1 細胞期胚ではコアプロモーター配列が無くともグアニンやシトシンを多く含んでいればプロモーターとして機能することを示唆する報告がなされている。そこで G や C が豊富に含まれている非遺伝子領域(G/C 含量が 60%以上)の上流および下流 1 kb において発現が見られるかどうかを調べた。すると発現が見られた非遺伝子領域のうち、G/C-rich 領域の周囲に存在するものは 1 細胞期胚において最も高い割合を示し、発生を経る過程でその割合は徐々に減少していくことが明らかになった。この結果より、minor ZGA ではゲノム上の至る所に存在する G/C-rich 領域がプロモーターとして機能することにより、非遺伝子領域が活発に転写されていることが示唆された。

本研究により minor ZGA は major ZGA の発現を引き起こすことにより初期発生における遺伝子発現プログラムを適切に保つという、胚発生に必須の役割を持つことが明らかにされた。また RNA-seq を用いた解析により、minor ZGA では厳密な転写制御機構が働いておらず、非遺伝子の様々な領域が転写されていることが示された。さらにこの転写は、緩んだクロマチン構造が形成されているために、本来は機能しない G/C を豊富に含む領域がプロモーターとして働くことにより引き起こされることが示唆された。

以上のように、本論文は、これまでまったく明らかにされていなかった受精後に起こる最初期の遺伝子発現の機能とその調節機構を解明したものであり、生命誕生後の発生をコントロールする遺伝子発現プログラム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 1883 字