



Title	Extensive and orderly reprogramming of genome-wide chromatin modifications associated with specification and early development of germ cells in mice
Author(s)	関, 由行
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46315
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について ご参照ください 。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	関 由 行
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20120 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Extensive and orderly reprogramming of genome-wide chromatin modifications associated with specification and early development of germ cells in mice (マウス生殖細胞の発生、初期分化におけるゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成)
論文審査委員	(主査) 教授 和田 芳直 (副査) 教授 仲野 徹 教授 岡部 勝

論文内容の要旨

{目的}

もともと1つの細胞である受精卵が、決められたプログラムに従い分裂を繰り返し、様々な細胞へと分化し個体形成を行う。個体の一部の例外を除いたすべての細胞は同一の遺伝情報を保持することを考えると、細胞の多様性は一次配列を超えた高次の制御‘エピジェネティクス’により制御されているといっても過言ではない。体細胞はその分化過程で読み込み可能な遺伝情報を制限することで、安定的な遺伝子発現パターンを確立し、その結果細胞としての可塑性を失う。一方で、生殖細胞は配偶子形成を行いつつも核の全能性を再獲得する能力を保持している。近年、一度全能性を消失した体細胞の核を脱核した卵に移植することで、体細胞核が全能性を再獲得することが示されたが、この事実は卵に全能性の再獲得に関わる機構‘リプログラミング’に関わる因子が存在することを示している。一方で、その成功率が数%であることは、生殖細胞の発生、分化過程には様々なリプログラミングのプロセスが存在し、そのすべてのリプログラミングの作業を受けた生殖細胞のみが高確率に全能性を再獲得できると考えることも可能である。

このような考察の下、生殖細胞の発生、初期分化過程においてゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成が誘導される可能性を検証するために研究を行った。

{方法ならびに成績}

マウス始原生殖細胞 (PGC) を可視化するために、Oct4 のプロモータ領域制御下で EGFP の発現が誘導される Oct4-EGFP transgenic mice を用いた。このマウスを用いると胎生 8.0 日以降の PGC を EGFP で可視化することが可能となる。このマウスを用いゲノムワイドなクロマチン修飾の動的変化を観察するために、様々な修飾ヒストンに対する抗体、メチル化 DNA に対する抗体を用いて免疫染色を行った。その結果、形成直後の胎生 8.0 日胚における PGC で抑制性クロマチン修飾である DNA のメチル化、ヒストン H3Lys-9 のジメチル化が劇的に減少することが明らかとなった。また、DNA の脱メチル化が誘導された胎生 8.0 日胚の PGC では DNA のメチル化酵素である Dnmt1、

3a、3b すべての発現が抑制されることが分かった。一方でより可塑的な抑制性ヒストン修飾である H3Lys-27 のトリメチル化は、H3Lys-9 のジメチル化が消去された直後に高メチル化が誘導されることが明らかとなった。このような抑制性クロマチン修飾をより可塑的な修飾様式に変換することが、全能性の再獲得において重要なのではないかと考えている。

{総括}

本研究によりマウス生殖細胞の発生、初期分化においてゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成が誘導されることが明らかとなった。しかしながら、このようなゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成が全能性の再獲得においてどのような役割を担っているのか、もしくは全く担っていないのかは不明である。今後、このようなゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成に関わる分子基盤を解明し、それらの分子の機能をノックアウトマウスなどの作製により阻害することで、それらのマウスの生殖細胞を用いて全能性の有無を解析する必要がある。

また、ゲノムワイドなクロマチン修飾の再構成が具体的にどのような遺伝子座で誘導されているか同定する必要があるだろう。

論文審査の結果の要旨

マウス始原生殖細胞 (PGC) は、全能性を消失した多能性幹細胞集団である原始外胚葉から胎生の 7.0 日胚にアルカリフォスファターゼ陽性細胞として出現し、配偶子形成を行い受精することで生命の連続性を保っている。しかしながら、如何にして生殖細胞が全能性を再獲得するのか、その実体、分子基盤はほとんどを分かっていない。本研究では、生殖細胞の保持する全能性の再獲得に関わる核内基盤を明らかにするために、生殖細胞の発生、分化におけるゲノムワイドなクロマチン修飾の動的変化を解析した。その結果、抑制性のクロマチン修飾である DNA のメチル化、ヒストン H3 Lys-9 のジメチル化が形成直後の胎生 8.0 日胚の PGC に広範囲かつ劇的に脱メチル化を受けることが明らかになった。また、脱メチル化が観察される時期の PGC においてすべて DNA のメチル化酵素の発現が PGC 特異的に抑制されることも明らかとなり、脱メチル化の一端を担っている可能性が考えられる。一方でより可塑的な抑制性修飾である H3 Lys-27 のトリメチル化がその直後の胎生 9.0 日胚の PGC 特異的に高メチル化が誘導されることが明らかとなり、このような抑制性修飾の変換が全能性の再獲得に関わっていると可能性が示され、この研究は学位の授与に値すると考えられる。