

審査結果の要旨

氏名 岡村 浩司

本研究は、細胞の増殖分化や個体の発生などに重要な役割を果たしているゲノムインプリンティングの分子機構の理解を深めることを目的に、今まであまり報告例のない種特異的インプリント遺伝子の一つであるマウス *Impact* について、その周辺ゲノム領域を、ヒトの対応する領域と比較して解析を行い、以下の結果を得ている。

1. 既知の cDNA 塩基配列から単離したマウスおよびヒトの BAC クローンを用いて、Nested Deletion 法で塩基配列を決定し、*Impact* とインプリンティングを受けないヒトホモログ *IMPACT* の詳細な比較解析を行った。その結果、それぞれ 25kb と 35kb にわたって、11 のエキソンから成るよく保存された遺伝子であることが分かった。インプリント遺伝子には一般にイントロンが少ないことが指摘されているが、*Impact* はこれに当てはまらないことも明らかとなった。ヒトでは第 1 エキソンを含む領域が CpG アイランドとなっているのに対し、マウスでは第 1 イントロン内に CpG アイランドが存在し、インプリント遺伝子に特徴的なタンデムリピートが見出された。このような構造の差異が両遺伝子の発現の相違に影響を与えている可能性が示された。

2. マウス *Impact* でのみ見つかったこの領域に対し、長さの多型を巧みに利用して DNA メチル化状態を調べたところ、発現が抑制されている母性アレルは高メチル化、転写される父性アレルは低メチル化状態にあることが明らかとなった。このアレル別メチル化状態はプロモーター領域にまで広がっているものの、それ以外の領域に関しては、両アレルともに高メチル化状態であることが分かり、*Impact* の CpG アイランド周辺の DNA メチル化が、インプリンティングの成立維持に関与している可能性が示された。

3. インプリント遺伝子はしばしば染色体上でクラスターを構成するため、ヒトの対応する領域と比較しながら、周辺遺伝子のアレル別発現解析および DNA メチル化解析を行い、インプリンティングを調べた。その結果、両種でよく保存されているどの遺伝子も両アレル性に発現しており、また DNA メチル化状態にアレル別の違いは見られず、*Impact* は孤立型インプリント遺伝子であることが明らかとなった。しかし、*Impact* 上流に位置する、本研究で単離されたマウス *Osbp11b* に関しては、父性アレルが、母性アレルに対してやや優勢的に発現する傾向が認められた。DNA メチル化状態はアレル間に違いはなく、*Osbp11b* は基本的に両アレル性に発現する遺伝子であると思われるが、*Impact* プロモーター領域のアレルによるクロマチン構造の差異を反映して、父性アレルの優勢発現が観察されたと考えられる。孤立型インプリント遺伝子も距離によっては近傍遺伝子の発現に多少の影響を及ぼす可能性が示された。

以上、本論文はマウス *Impact* について、インプリント遺伝子に特徴的な構造を見出すとともに、他に見られないユニークな特徴をも明らかにした。この遺伝子は、クラスター内に存在して染色体ドメインとしての一括の制御を受ける他の多くのインプリント遺伝子とは異なり、孤立型であることが分かった。孤立型インプリント遺伝子は、これまで 2 例の報告があるが、そのどれもがレトロトランスポジションによりインプリンティングを獲得したと考えられている。一方、*Impact* はそのゲノム構造から、これらの例とは明らかに異なり、全く違った機構によりアレル別制御を受けているものと思われる。さらに、孤立型であるということは制御に重要な *cis* 領域が、この限られたゲノム領域に存在することを意味し、種特異的であることを利用した比較解析により、制御領域候補を同定するに至った。これらのことから本研究は、理解が進んでいない哺乳類ゲノムインプリンティングの分子機構の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値すると考えられる。