

論文審査の結果の要旨

氏名 金 鎮文

本論文は、減数分裂期中の卵子ゲノムあるいは未受精卵中に移植された体細胞核ゲノムにおけるリプログラミングのメカニズムについて調べたものである。全体は3章からなり、第1章ではマウス未受精卵の細胞質環境が移植された体細胞核のゲノムリプログラミングに及ぼす影響について、第2、3章では減数分裂中の卵子ゲノムおよび未受精卵に移植された体細胞核ゲノムのリプログラミングにおけるヒストン修飾の関与について述べられている。

第1章では、受精前の第2減数分裂中にあるMII期卵と受精直後の1細胞期胚にそれぞれ体細胞核を移植し、その発生、および転写活性、TBPの核局在などの遺伝子発現に関連する要因について比較した。その結果、MII期移植卵では胚盤胞まで半数以上の移植胚が発生したが、1細胞期移植胚ではほとんどその発生が見られなかった。また、転写活性は、MII期移植胚では活性化後一旦不活化し、その後1細胞後期で急激に上昇したが、これは対照群の活性化卵と同様の変化パターンであった。一方、1細胞期移植胚では不活化が見られず、その後も急激な上昇はなく一定レベルを保っていた。また、基礎転写因子であるTBPの核内局在の変化も同様であった。以上より、MII期卵の細胞質には分化した体細胞核のゲノムをリプログラミングする因子が存在するが、この因子は受精後すぐに消失あるいは不活化することが明らかとなった。また、転写活性、あるいはTBPの核局在の変化は体細胞核移植におけるゲノムリプログラミングの良い指標となることが示唆された。

第2章では、これまでまったく明らかにされていなかったゲノムリプログラミングのメカニズムを解き明かすことを試みた。まず、分化した体細胞で遺伝子発現の情報を分裂期を越えて次の世代へ残すために必要な”cell memory”が、ゲノムリプログラミングの際に消失するという仮説を立て、その”cell memory”のマーカであるヒストンのアセチル化およびTBPの核局在を調べた。その結果、減数分裂中にヒストンの著しい脱アセチル化、およびTBPの核局在の消失が起こることが示された。さらにこの変化は未受精卵に移植された体細胞核でも同様に見られた。これらのヒストン脱アセチル化は、減数分裂特異的なヒストン脱アセチル化酵素の活性化によるものであることも明らかとなった。以上により、ゲノムリプログラミングに

はそれまでの分化したゲノムが持っていた遺伝子発現情報の消去が関与しており、その消去には”cell memory”の消去が必要であることが示唆された。

第3章では、ゲノムの両親由来に関する情報がリプログラミングの際に残されるメカニズムについて調べた。哺乳類では父親由来のゲノムと母親由来のゲノム間に機能的な差が存在することが知られている。このためゲノムが父親由来か母親由来かを記憶する情報は、ゲノムリプログラミングの際に **cell memory** が消去される過程でも維持されなければならない。そこで、ゲノムの両親由来を記憶するマーカーとしてヒストン **H3 Lysin9 (H3K9)** のメチル化に着目し、リプログラミングの際の変化とその調節機構を調べた。その結果、受精後の **H3K9** のメチル化は母親由来のゲノムで高く、父親由来のゲノムで低いことが明らかとなった。ところが、父親由来のゲノムを未受精卵中に移植するとメチル化レベルの上昇が見られた。これらの結果は、父親と母親由来のゲノムには本質的な違いはなく、**H3K9** のメチル化を用いて単に受精前に卵子中に存在したゲノムは母親、そして受精後に侵入してきたゲノムを父親と認識することでゲノムの由来を識別する機構があることを示唆している。

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減数分裂中、あるいは未受精卵に移植された体細胞核でのゲノムリプログラミング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。

なお、本論文第1章は、小倉淳郎、永田昌男、青木不学、第2章は、劉紅淋、田崎真友子、永田昌男、青木不学、第3章は劉紅淋、青木不学との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。