

[別紙 2]

## 審査の結果の要旨

氏名 鄭 祉殷

本研究は、DNA メチル化による転写制御と選択的プロモーターの関係の解析を目的とし、5 種類のヒトの正常の組織で、選択的プロモーターの DNA メチル化状態の解析を行い、下記の結果を得たものである。

1. 完全長 cDNA 配列を手がかりに同定された上流プロモーター配列の網羅的解析を行ってきた我々の研究室を含めて、他の研究室の報告でもヒト遺伝子について、選択的プロモーターにより制御されていることが明らかになっている。そこで、61 遺伝子、181 個の選択的プロモーター（59 個の CpG アイランド (+) と 122 個の CpG アイランド (-) プロモーター）について、testis, brain, spleen, stomach, liver でのメチル化の状態を HM-PCR (Hpa II-McrBC PCR) 法により調べ、観察されたメチル化のパターンを、complete, null, incomplete, composite の四つのパターンに分類し、解析を行った。その結果、181 個の選択的プロモーターの 60% について、個々のプロモーターの DNA メチル化の状態は組織の間にメチル化のパターンが変化していたことがわかった。

2. 組織特異性の選択的プロモーターの 144 個中、24% が complete, 45% が null, 28% が composite, 3% が incomplete のメチル化のパターンを示した。一方、組織非特異性選択的プロモーター 37 個の場合は complete 24% (37 個)、null 42% (64 個)、composite 31% (47 個)、incomplete 3% (5 個) のパターンを示した。これらの選択的プロモーターは二つのアレル中一つのアレルはメチル化され、もう片方のアレルはメチル化されていない composite のパターンが incomplete より顕著に観察された。

3. 解析を行った 61 遺伝子の中で 5 個の遺伝子は 10 個の選択的プロモーターをもちその全てがほとんどの組織で null の状態を示した。それを除き、全ての組織で選択的プロモーターのメチル化のパターンが一致する遺伝子は存在しなかった。選択的プロモーター間で DNA メチル化の状態は多くの場合、相互に異なるメチル化パターンを示すことが明らかとなった。

4. CpG アイランド (+) の選択的プロモーターの 80% から 90% までのメチル化の状態は 5 種類の組織で null であることが分かった。その反面、CpG アイラン

ド(-)の選択的プロモーターは組織の間でメチル化状態の変化が見られた。また、CpG アイランド(+ )の選択的プロモーターが null の時、同じ遺伝子の他のプロモーターは大体 CpG アイランド(-)の選択的プロモーターであり、これらのメチル化のパターンは全般的な CpG アイランド(-)の選択的プロモーターのパターンと似ていることが認められた。CpG アイランド(+ )の選択的プロモーターと CpG アイランド(-)の選択的プロモーターの間のメチル化の状態は大きく異なることが明らかとなった。

5. 選択的プロモーターの特異性がある組織と他の組織の間での DNA メチル化の状態を組織特異性が最も多い組織である testis-preferring 選択的プロモーターで調べた。その結果、testis-preferring 選択的プロモーターのメチル化のパターンが testis で null にかたよっていることと complete のパターンはあまりないことが明らかになった。このようなバイアスは testis-preferring 選択的プロモーターの他の組織や testis 非組織特異性選択的プロモーターの他の組織でも見られなかった。これらの結果から testis で testis 特異的選択プロモーターが特異的な調節をしていると考えられた。testis で null のメチル化のパターンを示した testis-preferring 選択的プロモーターを持つ遺伝子について、その他の選択的プロモーターにはこのようなバイアスは見られなかった。組織特異性プロモーターは優先的に発現される組織で選択的プロモーターよりメチル化されない傾向が見られた。組織特異性プロモーターのメチル化の状態は組織非異性プロモーターより大きく異なることが分かった。

6. DNA メチル化と mRNA 発現のレベルの間の変化を調べた結果、null あるいは弱いメチル化のパターンを示した選択的プロモーターは強く発現し、complete のパターンは弱く発現することが示され、DNA メチル化の変化と遺伝子の発現の変化の間にある程度の相関が存在することが明らかとなった。

転写が強い組織で null のメチル化の状態を見せるプロモーターが多いことが明らかになった。組織特異性遺伝子の発現は組織に依存し、様々なメチル化メカニズムが存在すると考えられる。

以上、本論文は、選択的プロモーターにおける DNA メチル化の変化が、非常に dynamic な変化であることを示した初めての論文である。特に DNA メチル化が選択的プロモーターの使い分けに重要な役割を果たしていると考えれば、CpG アイランド(+ )プロモーターと CpG アイランド(-)プロモーターの間に明らかに変化が見られたことは非常に興味深い。本研究は、メチル化による遺伝子発現制御の全体像を解明するのに取り組んだ基ものとして評価できるこ

とから、学位の授与に値するものと考えられた。