

審査結果の要旨

氏名 大西 悠亮

本研究は哺乳類の初期発生過程における機能性 **small RNA** を網羅的に解析するため、マウス初期胚から **small RNA library** を作成し、大量シーケンス技術を用いて、マウス初期発生過程において機能的に働く **small RNA** の同定を試みたものであり、以下の結果を得ている。

1. 効率よく **small RNA** ライブラリーを作成する方法を確立し、マウス未受精卵、8-16細胞、胚盤胞そして ICM から **small RNA library** を作成した。そして、パイロシーケンス技術によって、初期胚に存在する **small RNA** の網羅的な発現プロファイルを見出した。
2. **Small RNA** の発現プロファイルから、マウス初期発生過程においては、レトロトランスポゾンに由来する **small RNA** がマウス未受精卵に多く、発生がすすむにつれて減少すること、また **microRNA** は増加することを見出し、初期発生過程における **small RNA** は、質的・量的に大きく変化していることを見出した。そして、マウス初期胚の機能性 **small RNA** は、発生過程がすすむにつれ、内在性 **siRNA** から **miRNA** への大きな変化を示すことを見出した。
3. レトロトランスポゾンに由来する **small RNA** のうち、母性由来や発生過程において新規に産生される内在性 **siRNA** を同定した。それらの機能面の解析のため、エレクトロポレーション法によって、受精卵や 8-16細胞において核酸を導入する実験系を確立した。そしてマウス初期胚に存在する内在性 **siRNA** は **RNAi** によって、レトロトランスポゾンの発現調節に関与している可能性を見出した。
4. **Small RNA** の発現プロファイルから、初期発生過程における **microRNA** の発現量の変化を網羅的に見出すことができた。そして初期胚の大部分の **microRNA** は、発生過程がすすむにつれ、発現量が増加することを併せて見出した。
5. ICM の **small RNA** ライブラリーから、ICM では主に **microRNA** が存在していることを見出し、そして胚盤胞と ICM のライブラリーを比較することで、ICM に多く存在する **microRNA** や、異なる細胞系譜である TE に多く存在する **microRNA** を見出す

ことができた。さらに、その ICM や TE に多く存在する microRNA の発現調節の違いが、初期発生過程の細胞分化が形成される 8-16 細胞以降に、生じる可能性が示唆された。

以上、本論文はこれまでに詳細な解析がなく、大部分が未知であった、初期発生過程における機能性 small RNA を同定し、哺乳類の初期胚における遺伝子発現の調節機構として、small RNA が関与する可能性を見出した。本研究の結果は、初期発生過程における機能性 small RNA の影響の解明に、重要な貢献をなすと考えられ、学位授与に値するものと考えられる。