

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 村本 玄紀

哺乳類ゲノムの遺伝子領域には細胞・組織に依存的にメチル化されるDNA領域 (tissue-dependent and differentially methylated region, T-DMR) が存在しており、多くの場合、DNAメチル化は抑制型のヒストン修飾と相まって遺伝子はサイレントとなり、逆に、発現可能な遺伝子領域のT-DMRは低メチル化で遺伝子発現型のヒストン修飾となっていることが知られている。一方、DNAは非ヒストン核タンパクや核内膜のラミン等との相互作用を通じて、直径約10 μmの核内に機能性秩序を持って収納され、核内での配置が遺伝子発現と密に関係しており、いわゆる染色体テリトリーが形成されていることが提唱されている。

近年、胚性幹細胞 (ES細胞) において数千に及ぶ特有の低メチル化T-DMR (ES hypo T-DMR) が遺伝子プロモーター領域を中心に特定された。ES hypo T-DMRを有する遺伝子 (群) はES細胞でのみ発現し、他の分化体細胞では抑制される。DNAメチル化とヒストン修飾などのエピジェネティック修飾により、ゲノム利用の使い分けが起こり、細胞の多様性が生じているのである。遺伝子間領域は繰り返し配列が主体で、転移因子がその大部分を占める。通常、分化体細胞では繰り返し配列や転移因子は高度にメチル化されているとされるが、各ES hypo T-DMR周辺の配列についての解析は無い。

ES細胞でも転移因子がメチル化されているとすればES hypo T-DMRには他の領域と異なる配列があっても不思議は無い。逆に、転移因子もES hypo T-DMRと共に低メチル化になるとすれば、転移因子自体にES hypo T-DMRが存在することになる。少なくとも、転移因子は真核細胞ゲノムを構成する主要な配列であり、真核生物の進化の原動力の1つと考えられる。ゲノムのエピジェネティクス制御と進化の観点から、ES hypo T-DMRのエピジェネティクスの状況の成立と転移因子を含む配列情報との関係は興味深い。

本論文は、2章よりなる。第一章ではメチル化感受性制限酵素感受性とマイクロアレイによるT-DMRプロファイル解析法(D-REAM)により遺伝子プロモーター領域に焦点を当てた解析が行われ、ES hypo T-DMRの周辺にはSINE配列が多く、LINE配列が少ないという特徴が明らかになった。SINE配列が多い傾向は、ES hypo T-DMRを持つ遺伝子の転写開始点の前後少なくとも300 kbにわたって認められた。ゲノム中には複数のES hypo T-DMRが存在する、1 Mb以上にわたりSINE配列が多いゲノムドメインも発見された。ES hypo T-DMR周辺のSINE配列はCpG配列が豊富であり、SINE配列の特定サブファミリーに属することも分かった。さらに興味深いことは、ES細胞特有の遺伝子クラスターを形成するDppa3遺伝子領域ではSINE配列自体が低メチル状況にあった。すなわち、通常、分化体細胞で高メチル化により抑制されているが、ES細胞では抑制を免れているSINE配列が存在し、これらSINE配列ごと低メチル化になっていたのである。このことは、繰り返し配列 (SINE配列) にもT-DMR が存在することを示しており、ES細胞で遺伝子領域のT-DMRと共に転

写可能な状況が出来上がっているのである。このことは、ES細胞あるいはおそらく初期胚では特定のSINE配列は転移可能なことも示唆している。

第二章では、D-REAMにより第6、8、および16染色体の全域が解析された。その結果、ES hypo T-DMRは遺伝子間領域にも存在し、その周辺はSINE配列密度が高い傾向にあることが判明した。さらに、ES hypo T-DMRは染色体上でSINE配列が豊富なゲノムドメインに集中して存在した。したがって、ES細胞の染色体レベルでの特徴としてES hypo T-DMRは、単に遺伝子単位のエピジェネティクス発現制御の観点を超え、ゲノムの核内構造として注目しなければならなくなる。データベースを用いてクロマチン関連因子との結合領域を調べたところ、特にSINE配列密度の高いドメインに存在するES hypo T-DMRで、クロマチン関連因子が結合することが示され、さらに、転写促進型のヒストン修飾も認められることが明らかになった。さらに、染色体構造との関連を探る目的で、既報の核ラミン結合情報との関連を追及したところ、ES hypo T-DMRは分化に伴い、転写の不活性な核内領域である核膜との相互作用頻度が上昇する傾向を示した。

核内は高度に区画化されており、核内で転写が行われるのは、転写ファクトリーとよばれる核内空間に限られる。ES hypo T-DMRがSINE配列密度の高い染色体領域に集中し、さらにSINE配列密度の高い領域に存在するES hypo T-DMRほど核内高次構造に関わる因子がよく結合することは、ES hypo T-DMRを空間的にまとめて制御することに繋がる。遺伝子領域と遺伝子間領域のDNA配列情報（SINE配列）とES hypo T-DMRの形成が、転写ファクトリー構築に寄与している可能性が示された。転移因子SINE配列のゲノム制御に果たす役割は、SINE配列の新たな進化における役割を浮上させた。

以上、これらの発見は遺伝子制御の基礎として重要であるばかりでなく、生物の進化に新たな視点を提供している。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。