

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

主論文の要旨

雄マウス生殖細胞発生過程における
論文題目 エピゲノムダイナミクス
氏名 川瀬 雅貴

論文内容の要旨

哺乳類において、生殖細胞は生命の設計図であるゲノム情報を親から次世代に伝えることのできる唯一の細胞である。この点で、一代限りで役目を終える体細胞と異なり、生殖細胞は生物種の存続と進化において非常に重要な役割を担っている。生殖細胞はその発生過程で減数分裂や相同染色体組換え、エピゲノムの変遷などを経験するが、これらのイベントにより細胞形質の変化やゲノム情報の再構成、クロマチン構造の変化が起きる。これらの生殖細胞の発生に必須なイベントの中で、生殖細胞がどのようにゲノムやエピゲノムの情報を管理しているのかは十分に分かっていない。ゲノム情報を変化させる要因として、ゲノム中を転移するレトロトランスポゾンが知られている。この転移は、レトロトランスポゾンから転写された RNA が、レトロトランスポゾンにコードされている酵素によって逆転写されることで起こる。一方、細胞はエピジェネティック制御機構を利用して、レトロトランスポゾンの転移を抑制している。この制御機構には DNA のメチル化やヒストン H3K9 メチル化などのクロマチンの化学修飾や、生殖細胞特異的な small RNA である piRNA が働く機構がある。体細胞では、DNA メチル化や H3K9me3 などの安定したエピジェネティック修飾によってレトロトランスポゾンが転写抑制されているが、生殖細胞においてはゲノム全領域にわたって DNA が脱メチル化されるなど、エピジェネティック修飾量がダイナミックに増減する。生殖細胞の発生過程における抑制性エピジェネティック制御機構の役割とその特徴の一端を解き明かすために、本研究では哺乳類のモデル生物としてマウスを使い、第 2 章で雄性生殖細胞発生過程における piRNA クラスタとレトロトランスポゾン由来の piRNA の発現のダイナミクスを、第 3 章で精母細胞における H3K9 メチル化酵素 SETDB1 と H3K9me3 の転写制御における役割とクロマチン構造制御の可能性について明らかにした。

第 2 章では生殖細胞の 5 つの発生ステージ、すなわち、前駆精原細胞、精原細胞、

レプトテン・ザイゴテン期精母細胞，パキテン・ディプロテン期精母細胞，円形精子細胞で発現する piRNA を大規模解析した．その結果，各発生ステージにおいて特徴的な長さを持つ piRNA が現れることを明らかにし，新たな piRNA 区分として，PSG piRNA, early piRNA, late piRNA の名称を提案した．また piRNA クラスターごとに解析を行い，piRNA 長は発現している PIWI タンパク質と由来となる piRNA クラスターによって決まる可能性を示した．さらに同じレプトテン・ザイゴテン期精母細胞であっても，ファーストウェーブのものと同以降のものでは異なる特徴を持つ piRNA が産生されていることを明らかにした．そして前駆精原細胞の piRNA はレトロトランスポゾン由来，特に若いレトロトランスポゾン由来の piRNA が多く，この時期の大規模な DNA 脱メチル化・転写脱抑制を補完するように piRNA が作られていることを示した．

第 3 章では H3K9 のトリメチル化酵素 SETDB1 の遺伝子を欠損させた雄マウスを使い，レプトテン・ザイゴテン期精母細胞における転写量，H3K9me3 量，DNA メチル化率，そしてオープンクロマチン領域に関して解析をおこなった．*Setdb1* 欠損では性染色体上遺伝子が特に発現上昇しており，また H3K9me3 量も低下していることが明らかになった．また MMERVK10C など ERVK ファミリーに属するいくつかのレトロトランスポゾンが H3K9me3 量の低下と共に転写上昇していることが分かった．DNA メチル化不全となる *Dnmt3l* 欠損細胞と比較したところ，精母細胞では，L1 ファミリーを含む多くのレトロトランスポゾンは主に DNA メチル化による抑制を受けている一方，MMERVK10C や RLTR10C は DNA メチル化と H3K9me3 のそれぞれの抑制を受けていることを明らかにした．さらに *Setdb1* 欠損によって新たにできたオープンクロマチン領域には，クロマチン構造の形成に関わる CTCF タンパク質の結合配列が多く含まれていることを明らかにした．このことは染色体構造がダイナミックに変化する減数分裂期の細胞において，SETDB1 が正しい染色体構造の形成に関わる可能性を示唆する．

以上のように，2 つの研究を通して，DNA メチル化，H3K9me3，piRNA の 3 つのエピジェネティック制御機構が補完し合いながらレトロトランスポゾンの抑制に働くことが示された．また，これらの制御機構はレトロトランスポゾン抑制だけではなく，各発生ステージの生殖細胞での特徴的なクロマチン構造の構築に深く関わっており，生殖細胞の発生過程に必須であることが明らかとなった．