

修了年月日：2007年3月22日

専攻：先端生命科学専攻

氏名：大我 政敏

学生証番号：56511

論文題目：Changes in H3K79 methylation during preimplantation development in mice

(マウス着床前初期胚における H3K79 メチル化の変化)

キーワード：ヒストンメチル化 マウス着床前初期胚 H3K79

指導教官名：青木 不学

指導教官役職：助教授

Histone H3 Lysine 79 methylation in mouse preimplantation embryos.

(マウス着床前初期胚におけるヒストン H3K79 メチル化)

学生番号 56511 資源生物制御学分野

大我 政敏

[序論]

受精卵は全能性を有するが、これは受精の前後で分化した配偶子のゲノムが初期化される事によって得られる。遺伝子発現は卵成長の過程で停止し、減数分裂を経て、受精後 1 細胞期後期までその停止状態が維持されている。また、この転写の休止期間、つまり受精の前後で、遺伝子の発現パターンは大きく異なっている事が明らかになっている。これらの事から、この休止期間に遺伝子発現パターンを大きく切り替えるメカニズムが存在する事が予測される。そこで、本研究ではこの卵型の遺伝子発現から全能性を有する受精卵型の遺伝子発現へと変化する現象をゲノムの初期化と定義し、この長い転写の休止期間のいつ、またどのようなメカニズムが機能する事でゲノムの初期化がなされるのかを解明する事を目的とした。ゲノムの初期化には、細胞分裂後も親細胞の遺伝子発現パターンを維持するために役立つとされるヒストン修飾などエピジェネティックな調節機構についてのゲノムワイドな変化が必要と考えられるが、そのメカニズムは明らかになっていない。histone H3 lysine79 のジメチル化 (H3K79me2) は、活発に発現される遺伝子のプロモーターからコーディング領域の 5' 領域に偏在している長期的活性化マーカーとして知られている。そこで本研究ではマウス卵形成および初期発生時におけるそのメチル化状態についての解析を行った。さらに、他の H3 の Lysine 残基に対するメチル化に関しては、ジメチル化よりもトリメチル化の方が、結合タンパク質との親和性が高く、マーカーとしての機能がより顕著である事と、これまでに哺乳類の体細胞において H3K79 のジメチル化 (H3K79me2) に関する報告は数多くあるが、トリメチル化(H3K79me3)に関する報告は全く見られない事から、本研究ではこの両者について調べ、比較検討を行った。

[結果]

1. H3K79 のメチル化は活性化マーカーと抑制化マーカーとしての相反する二つの機能を持つ

まず、体細胞 NIH3T3 における H3K79me2 および H3K79me3 の核内局在を免疫染色法によって調べた。いずれの細胞においても H3K79me2 は染色体全体にほぼ一様に観察され、ユークロマチン領域に存在するというこれまでの報告と矛盾しない結果が得られた。これに対して H3K79me3 は DNA の染色で濃く染まるセントロメア近傍のヘテロクロマチン領域にのみ局在していた (図 1)。この事から、活性化遺伝子のマーカーである H3K79me2 とは反対に H3K79me3 は特定のゲノム領域の不活化に関与している事が示唆された。

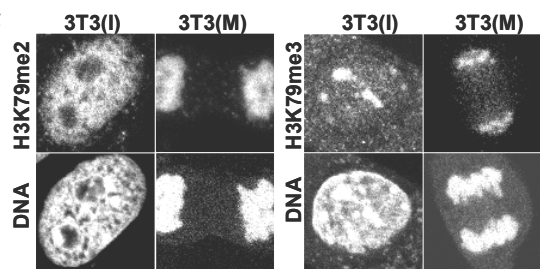


図 1. H3K79me2 はユークロマチン、H3K79me3 はヘテロクロマチンに局在している。

2. H3K79 のメチル化は受精直後にゲノムワイドに消失する

次に減数分裂および初期発生期における H3K79 のメチル化状態の変化を調べた。成長卵および未受精卵では H3K79me2 および H3K79me3 はいずれも高いレベルを示し、この状態は受精直前まで維持されていた。しかし、受精を機にこれらのメチル化レベルは急激に低下した。さらに、分裂期に一過的に H3K79me2 のレベルが上昇することを除いては、桑実胚期まで比較的 low メチル化状態に維持されていた。そして、H3K79me2 のレベルは胚盤胞期胚において再び著しく上昇したが、H3K79me3 は依然として低いレベルのままであった (図 2)。

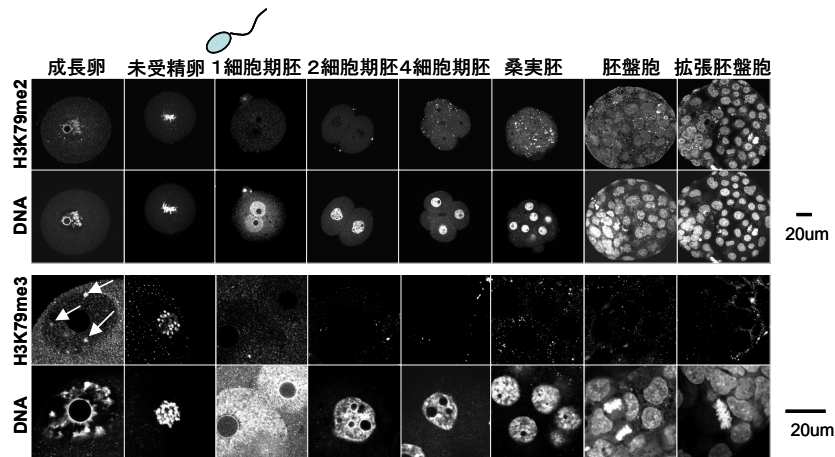


図 2. 受精を機にH3K79のジメチル化とトリメチル化が消失した。また、H3K79 ジメチル化は胚盤胞期にかけて急激に増加した。

3. H3K79me2 の脱メチル化は受精直後の1細胞期胚(受精卵) 前期特異的に起こる

また、受精後の急激な H3K79me2 の脱メチル化とゲノム初期化の関連を検証した。体細胞核を未受精卵に移植し、その後受精と同様の刺激を人為的に引き起した活性化胚において、そのメチル化状態を調べた。その結果、移植された体細胞核において H3K79me2 の脱メチル化が観察された (図 3A)。さらに、この脱メチル化活性が受精直後に特異的な現象であるかを調べるために、活性化後 7 時間後に体細胞核移植を行った。すると、移植された体細胞核は脱メチル化を受けなかった (図 3B)。

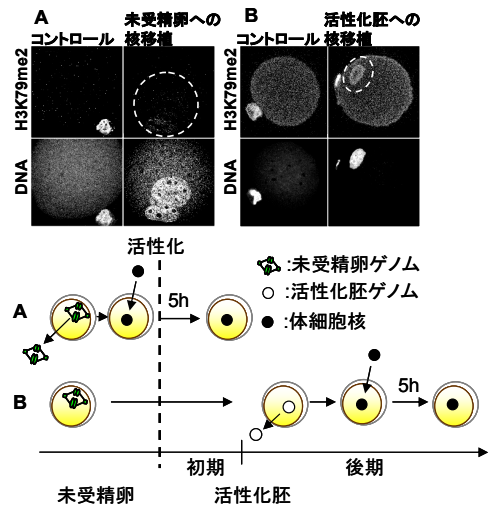


図 3. 受精直後の1細胞期胚前期には移植された体細胞核に対する脱メチル活性があった。しかし、1細胞期胚後期にはこの脱メチル化活性は失われていた。

[考察]

本研究では H3K79me2 が遺伝子発現の活性化マーカーであるのに対して、H3K79me3 が抑制マーカーである事を示唆し、H3K79 のメチル化がメチル基一つで遺伝子発現を制御できる、「スイッチ」のようなユニークな働きがある可能性を示した。さらに活性化遺伝子のマーカーである H3K79me2 と不活化ゲノム領域にマークされている H3K79me3 という、全く反対の機能を持つと予測されるこの両者が、受精直後の1細胞期前期にのみ特異的に脱メチル化される事を明らかにした。

以上の結果から、初期胚では遺伝子発現の再開が行われる前に、卵型の遺伝子発現パターンを記憶している H3K79 のメチル化が受精をきっかけにして消去され、これがゲノムの初期化に関与していると考えられた (図 4)。また、着床前発生の初期において遺伝子発現マーカーである H3K79 のメチル化状態が低い事によって、この時期に遺伝子発現パターンがダイナミックに変化することを可能にし、初期胚が全能性を維持出来るのではないかと考えられた (図 4)。

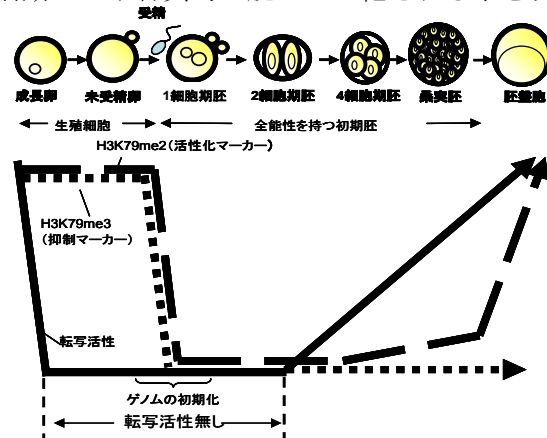


図 4. ゲノムの初期化と H3K79 メチル化の概念図。活性化マーカーである H3K79me2 と抑制マーカーである H3K79me3 が受精直後に消失する事が、ゲノムの初期化に関与していると考えられる。