

雄の生殖細胞への卵子型インプリントの導入 — 雄どうしは交配できるか？



畑田 出穂

群馬大学生体調節研究所附属生体情報ゲノムリソースセンター

1. 私が知りたかったこと

配偶子形成過程においてはインプリント遺伝子のエピジェネティックな情報のリプログラミングとその後の維持により、精子型、あるいは卵子型のそれぞれ特異的なエピジェネティックな情報の記憶が次世代に伝わり、受精後の個体発生において異なる働きをするため単一性の親由来ゲノムのみで胚の発生を不可能にしている。エピジェネティック情報の維持とリプログラミング機構を理解することにより、この機構を自由にあやつることができれば単一親からの固体発生や、発生分化を制御することが可能にもなると考えられる。この研究ではゲノムのエピジェネティック情報の維持とリプログラミング機構を理解することをめざした。

2. 結果

(1) Dicer ノックアウトマウスを用いたリプログラミング機構の解析

エピジェネティックな遺伝子の不活性化の機構において RNAi が重要な働きをしていることは植物、酵母ではわかってきているがほ乳類では明らかではなかった。我々はインプリント遺伝子の1つの U2af1-rs1 が cosuppression という RNAi 機構と密接に関係した現象を起こすことをみいだしており、ほ乳類においても RNAi がインプリンティングをはじめとするエピジェネティック機構に関与するのではないかという仮説を考えた。そこで RNAi 機構の最重要要素の1つである Dicer1 遺伝子のノックアウトマウスの解析を試みた。予想に反してホモマウスが致死ではなかった。このマウスは Dicer1 遺伝子のエクソンをトラップするかたちで作製されていたが、完全にトラップされていないことが遺伝子発現の漏れにつながり結果として Dicer1 遺伝子の大幅に低下したマウスにな

っていたことがわかった。しかしマウスにおける Dicer1 遺伝子発現の大幅な低下はインプリント遺伝子のエピジェネティックな状態の維持、あるいはメスの生殖細胞におけるリプログラミングには影響がないことがわかった。

(2) Ago2 ノックアウトマウスを用いたリプログラミング機構の解析

RNAi 機構のもう 1 つの重要な因子である Ago2 (Eif2c2) のノックアウトマウスの解析を試みた。その結果ホモマウスは出生せず、E3.5 では正常であるが E6.5 では明らかに異常であることがわかった。インプリント遺伝子の発現、メチル化を解析をおこなったが大きな異常はなく RNAi 機構はインプリンティングの維持にはあまり影響がないことがわかった。またその他、反復配列のメチル化を調べたが異常はないことがわかった。しかし一部の反復配列で発現上昇が DNA メチル化の変化なしにおこっていることがわかった。従ってほ乳類では RNAi 機構は DNA メチル化を介さない機構によりエピジェネティック機構をになっていることが示唆される。

(3) エピジェネティック情報の異常は生殖細胞でのリプログラミングに影響するか？

正常な状態ではほ乳類の生殖細胞はインプリント遺伝子のリプログラミングをおこなうことができる。しかしもしリプログラミングされる前の生殖細胞のインプリント遺伝子のエピジェネティック情報が異常であったらリプログラミングが正常におこるかどうかはこれまでわかっていなかった。そこでインプリント遺伝子が母性型のものしかない単為発生胚と正常胚のキメラを作製し、単為発生胚由来の生殖細胞でのインプリント遺伝子のリプログラミングを調べた。その結果はリプログラミングは正常におこりエピジェネティック情報の異常はリプログラミングに影響しないことがわかった。このことは単一の親由来の生殖細胞も正常にリプログラミングが起こることを示しており、同一性の交配が可能なことを示唆する。

(4) エピジェネティック情報の網羅的解析法の開発

エピジェネティック機構の研究をおこなううえでゲノム中のどのような遺伝子でこれらの情報の変化が起こっているかを把握することは重要である。そこでプロモーターマイクロアレイを作製し、ゲノム中の DNA のメチル化を正確に把握する Microarray-based Integrated Analysis by Isoschizomer (MIAMI) 法を開発した。この方法では同じ認識部位を切断するメチル化感受性制限酵素 Hpa II とメチル化非感受性制限酵素 Msp I に対するゲノム DNA の感受性を比較することにより極めて正確にゲノムワイドな DNA のメ

チル化の解析をおこなうことができる。

3. 考 察

ほ乳類におけるエピジェネティック機構に RNAi 機構が関与するかどうかということは大きな注目の的となっている。RNAi の鍵となる遺伝子である Dicer1 の発現がかなり低下してもそれほど生命を維持していくことに影響ないということは驚くべき事である。このマウスにおいて Dicer1 を完全につぶせなかったのもこの遺伝子とエピジェネティック機構との直接の関係に対する答えはでなかったが、出生率の低下など表現型の変化がみられ今後の解析が期待される。

一方、Ago2 のノックアウトマウスにおいては遺伝子が完全に破壊され重特な発生異常が起こったが、エピジェネティック機構にはほとんど影響がなかったのは驚くべき発見であると考えられる。しかしながら一部の遺伝子で DNA のメチル化を介さず発現に影響があるというのは他の生物とは RNAi 機構の関与の仕方が異なることを示唆し、今後の研究につなげていきたいと考えている。

エピジェネティック情報の異常は生殖細胞でのリプログラミングに影響するかどうかという課題は単純な課題であるがこれまでにきちっとした検証はおこなわれていなかった。そこでエピジェネティック情報の異常は生殖細胞でのリプログラミングに影響ないという結論は今後、同一性のみによる交配技術など応用につながると考えられる。

エピジェネティック情報の網羅的解析法はこれからのエピジェネティック研究において重要になっており、今後多くの研究者により利用されこの分野の研究の発展に寄与すると期待できる。

文 献

Fukasawa M, Morita S, Kimura M, Horii T, Ochiya T, & Hatada I

Genomic imprinting in Dicer1-hypomorphic mouse. *Cytogenetic & Genome Res.* (*in press*).

Hatada I, Fukasawa M, Kimura M, Morita S, Yamada K, Yoshikawa T, Yamanaka S, Sakurada A, Sato M, Endo C, Kondo T, Horii A, Ushijima T, & Sasaki H

Genome-wide profiling of promoter methylation in human. *Oncogene* (*in press*).

Horii T, Nagao Y, Kimura M, & Hatada I.

Normal Reprogramming of Imprinting in Parthenogenetic Female Germ Cells. *Reprod. Fertil. Dev.* 17: 236, 2005.