

| | | | |
|--|--|-----|-------|
| 京都大学 | 博士（ 医学 ） | 氏 名 | 長野 眞大 |
| 論文題目 | Nucleome programming is required for the foundation of totipotency in mammalian germline development（Nucleome プログラミングは哺乳類生殖細胞系譜における分化全能性の基盤構築に必須である） | | |
| （論文内容の要旨） | | | |
| <p>生殖細胞は、精子及び卵子に分化し、受精を通じて、次世代の個体を形成する「全能性」を獲得する。生殖細胞系譜の起源である始原生殖細胞は、ゲノムワイドな DNA の脱メチル化を含むエピゲノムリプログラミングを起こすことが知られているが、ゲノム及びエピゲノム制御による全能性の分子基盤はほとんど解明されていなかった。本研究は、生殖細胞発生過程の鍵となる細胞種において トランスクリプトーム、エピゲノム、クロマチン高次構造を包括的に解析する “nucleome”解析を行うことにより、全能性獲得の基盤を明らかにすることを目的とした。</p> <p>生体内の生殖細胞は少数で nucleome 解析が困難なことから、生殖細胞発生過程を機能的に再現する試験管内再構成系を用いた。この系では胚性幹細胞（mouse embryonic stem cells; mESCs）から、エピブラスト様細胞（epiblast-like cells; EpiLCs）を通じ、始原生殖細胞様細胞（mouse primordial germ cell-like cells; mPGCLCs）を分化させ、エピゲノムリプログラミングを試験管内で再構成することが出来る。また、雄性生殖細胞の解析には、生体の精原細胞から樹立した精子幹細胞(germline stem cells; GSCs)並びに、PGCLCs より分化させた精子幹細胞様細胞（germline stem cell-like cells; GSCLCs）を用いた。</p> <p>第一に、DAPI (40,6-diamidino-2-phenylindole)染色により、核構造を高解像度で観察した結果、mESCs から GSCs にかけてクロマチンの一方向性の脱凝集が観察され、Hi-C (genome-wide chromatin conformation capture)により検出されたユークロマチンの一方向性の増加と一致した。さらに、包括的なエピゲノム解析を行うことにより、H3K9me2/3 の変化に基づく、LADs (lamina-associated domains)の減少とそれに伴う染色体の核内再配置がユークロマチン化と協調して起きることを明らかにした。</p> <p>クロマチン高次構造の「区切り」であるインシュレーションを解析すると、生殖細胞は、ゲノムワイドな脱メチル化に伴い、多くの制御領域が活性化可能な状態となるが、強固なインシュレーションが、制御領域同士の過剰な相互作用を防ぐメカニズムが示唆された。一方で、雄性生殖細胞への分化過程で、インシュレーションが大規模に消去されることで雄性生殖細胞関連遺伝子の発現に寄与していることが観察された。</p> <p>さらに、GSCLCs は、GSCs と 遺伝子発現が類似する一方、ユークロマチン化や、インシュレーションの消失が不十分であり、正常な nucleome の獲得が精子形成に重要な役割を果たすことが示唆された。</p> <p>本研究は、全能性の基盤を構築する nucleome プログラミングを解明した。本成果は、生殖生物学、幹細胞生物学の発展に寄与する。</p> | | | |

| | | | |
|--|--|--|--|
| <p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>生殖細胞はその発生過程で全能性を獲得する。その分子基盤の解明は、生殖生物学、幹細胞生物学における重要な課題である。生殖細胞は、全能性獲得の一端としてゲノムワイドな DNA 脱メチル化を含むエピゲノムリプログラミングを起こすが、全能性獲得機構の全体像は不明であった。本研究では、トランスクリプトーム、エピゲノム、クロマチン高次構造を解析する “nucleome” 解析を行い、全能性獲得のより詳細な分子基盤を明らかにすることを目的とした。</p> <p>本研究では、多能性幹細胞を起点に生殖細胞発生過程を機能的に再現する試験管内再構成系ならびに培養精子幹細胞株を用いて nucleome 解析を行った。細胞学的解析・クロマチン高次構造解析により、生殖細胞分化過程におけるユークロマチンの増加を伴うクロマチンの一方向性の脱凝集を明らかにした。包括的なエピゲノム解析により染色体の核内再配置がユークロマチン化と協調して起きることを解明した。生殖細胞では活性化可能な遺伝子発現制御領域が強固に区画化される一方、雄性生殖細胞への分化過程では、この区画が消去されることがその分化に重要な遺伝子の発現に寄与することが観察された。また、正常な nucleome の獲得が精子幹細胞の精子形成能に重要な役割を果たすことが示唆された。</p> <p>以上の研究は、生殖細胞発生過程における全能性獲得の分子基盤の解明に貢献し、生殖生物学の発展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和 5年 6月 9日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p> | | | |
| <p>要旨公開可能日： 年 月 日 以降</p> | | | |