

精子における”転写”は、刷り込みメチル化の引き金となるのか？

倉持 大地 (筑波大学 生物学類) 指導教員：谷本 啓司 (筑波大学 生命環境系)

背景

遺伝子の発現制御は、生物にとって必須の仕組みである。遺伝子発現は、塩基配列情報とその結合タンパク質 (転写因子) によって制御されると考えられてきたが、近年、ヒストンやDNAの化学修飾、つまり「エピジェネティックな情報」によっても緻密に制御されることがわかってきた。

エピジェネティックな遺伝子発現制御の1つに「ゲノム刷り込み」と呼ばれる現象がある。ゲノム刷り込みは、哺乳類を含む一部の生物にのみ存在する制御メカニズムであり、遺伝子が由来する親の性の違いによって、その発現のON-OFFが決定する。個々の細胞は、父親由来と母親由来の遺伝子座 (アレル) を持つが、両者の塩基配列は基本的には同一である。このため、ほとんど全ての遺伝子は両アレルから発現する。しかし、ごく一部の遺伝子はどちらかのアレルでのみ発現し、まるで由来する親の性を覚えているかのようにみえることから、このような発現様式を「刷り込み発現」と呼ぶ。

ゲノム刷り込みが観察される遺伝子座のひとつに、*Igf2/H19* 遺伝子座がある (Figure 1)。同遺伝子座には、成長因子をコードする *Igf2* 遺伝子と、non-coding RNA をコードする *H19* 遺伝子が存在し、それぞれ、父親由来アレルと母親由来アレルからのみ発現する。この発現の違いを生み出すのは、*H19* 遺伝子上流に存在する DNA 配列のアレル特異的なメチル化状態の違いであり、同領域を *H19* Imprinting Control Region (*H19*ICR) と呼ぶ。このように、ICR が異なるメチル化状態をとることを「刷り込みメチル化」という。*H19*ICR における父親アレル特異的なメチル化は、精子形成過程で確立し、受精後、体細胞においても維持されることが知られている (Figure 2)。

当研究室では以前、*H19*ICR DNA 断片の刷り込みメチル化に関わる機能を検証するために、通常は刷り込みを受けないヒト β グロビン遺伝子座に同断片を挿入した酵母人工染色体 (YAC) を用いてトランスジェニックマウス (TgM) を作製した (*PNAS* 102:10250-10255, 2005)。同マウスの解析の結果、*H19*ICR 断片のみで、体細胞におけるアレル特異的な DNA のメチル化を確立できることが示された。しかしながら、同 TgM の精子を解析した結果、内在 *H19*ICR とは異なり、導入 *H19*ICR はメチル化されていなかった。つまり、同断片は、体細胞における刷り込みメチル化の確立には十分であるが、精子における刷り込みメチル化を確立することはできないことが明らかとなった。

目的

配偶子形成時における内在 *H19*ICR の刷り込みメチル化の確立メカニズムは未だ明らかになっていない。本研究では、このメカニズムの解明を目的とした。

制御に関わる要素の候補として「転写」に着目した。これは、刷り込み遺伝子座の1つである *Gnas* 遺伝子座において、ICR にまたがる転写が同配列の刷り込みメチル化に必須であることが報告されたからである (*Genes Dev.* 23:105-117, 2009)。さ

らに、他グループによって、*H19*ICR においても、ICR にまたがる、精子特異的な転写が存在することが報告された (*EMBO J.* 31:606-615, 2012)。そこで本研究では、「同領域の精子特異的な転写が、*H19*ICR におけるアレル特異的な DNA メチル化を誘導する」という仮説の検証を行うこととした。

方法

まず、先行報告の通りに *H19*ICR にまたがる転写が存在するののかについての確認をおこなった。同領域の刷り込みメチル化レベルが著しく上昇する受精後 16.5 日胚のマウス精巣、肝臓、腎臓を採取し (後者 2つは対照群)、RNA を抽出した。次に、ランダムプライマーを用いて cDNA の合成を行った。同 cDNA について、*H19*ICR の領域特異的なプライマーにより PCR を行うことで、転写の有無を検証した。

結果

*H19*ICR にまたがる転写が存在することを確認した。

考察

現在、内在 *H19*ICR の上流に polyA 付加シグナルを挿入したマウスを作製中である。解析個体について、転写終結の確認と、同領域の DNA メチル化解析を行うことで、*H19*ICR の刷り込みメチル化における転写の必要性を検証する。

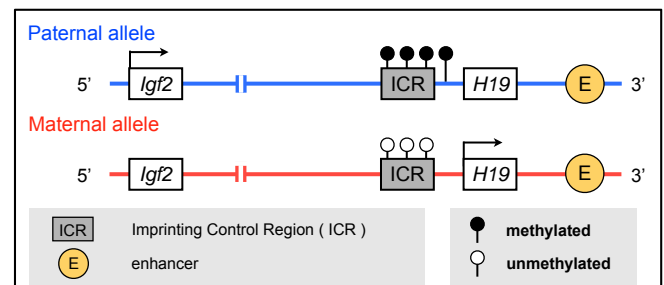


Figure 1: *Igf2/H19* 遺伝子座におけるゲノム刷り込み

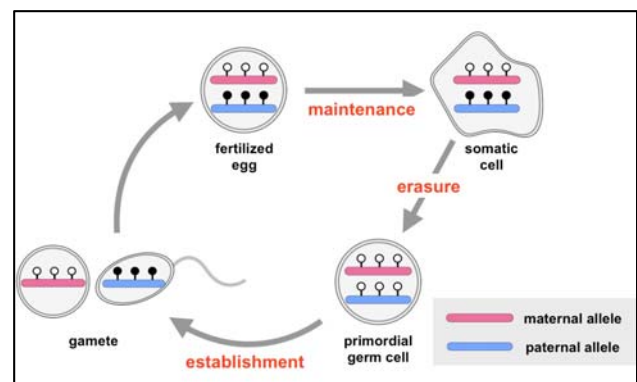


Figure 2: 刷り込みメチル化のサイクル