

自己評価報告書

平成 23 年 5 月 6 日現在

機関番号：82401
 研究種目：特定領域研究
 研究期間：2008～2012
 課題番号：20062014
 研究課題名（和文）精細胞形成過程における性染色体不活性化のエピジェネティック制御メカニズム
 研究課題名（英文） Epigenetic mechanisms underlying sex chromosome inactivation during spermatogenesis
 研究代表者
 古関 明彦（KOSEKI HARUHIKO）
 独立行政法人理化学研究所・免疫器官形成研究グループ・グループディレクター
 研究者番号：40225446

研究分野：生殖系列

科研費の分科・細目：

キーワード：マウス、精母細胞、減数分裂、性染色体不活性化、エピジェネティック制御

1. 研究計画の概要

精子形成における減数分裂は、染色体の各ドメインを単位とした制御によって極めて再現性よく行われる。分裂前期には、常染色体あるいは性染色体の偽常染色体領域における相同領域のペアリング、シナプス形成、相同組換えを介して、減数分裂の準備段階としての染色体の対合が完成される。ペアリングには、セントロメアとテロメアを介した染色体ダイナミクスが重要である一方、シナプスと相同組み換えは主にユークロマチン領域において起こる。また、性染色体や転移を伴う染色体など非相同領域にもかかわらず対合し分離する染色体では、異なるメカニズムが用いられている。本申請では、ポリコム群タンパクによるシナプス制御の分子メカニズム、XY 体形成における作用メカニズム、精子形成過程におけるヒストンアセチル化のメカニズムとその作用について詳細を明らかにし、これらのタンパクが染色体ドメインを単位とする制御にどのように寄与しているのかを明らかにする。

2. 研究の進捗状況

今までに、以下の点を明らかにした。①ポリコム群タンパクのひとつである Scmh1 を欠損したマウスでは、パキテン期後半における PRC1 と PRC2 の XY 体からの排除がおこらなくなり、その結果として減数分裂に向けての XY 体のクロマチン構造変換が障害される (Takada et al., 2007 Development)。②PRC1 の別の構成成分である Ring1A/B を二重に欠損させるとシナプスに異常が生じる。③ Ring1A/B と複合体を構成しうるタンパクである HP1g を欠損したマウスでは、レプトテ

ン期におこるペアリングが最初に障害され、おそらくその結果としてシナプスが障害される (高田、古関、投稿中)。④ポリコム群タンパクのひとつである Enhancer of Polycomb-1 (Epc1) を欠損したマウスでは、減数分裂後におこるグローバルなヒストンアセチル化が障害され、その後におこる TP への置換がおこりづらくなる (莖、古関、論文準備中)。ポリコム群やその関連タンパクを介したクロマチン状態の制御は、減数分裂期におこる様々な染色体ドメイン単位の制御に寄与することがあきらかになってきた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
 予定どおりに研究は進捗している。

4. 今後の研究の推進方策

(1) ポリコム群を介した減数分裂制御メカニズムの解明
 ①Ring1B と Ring1A を介した染色体機能制御 常染色体のペインティングとテロメア FISH を組み合わせた解析と、10 遺伝子を用いた FISH により、シナプスの異常を正確に評価する。XY 体形成及びそこにおける H2A モノユビキチン化を、より正確に細胞をステージしながら再評価する。また、Ring1A/B 二重欠損した細胞における DSB にひきつづいておこる応答が正常におこっているのかを、Spo11、Rad51、ATR、コヒーシンなどの機能分子をマーカーとした解析を行う。
 ②Enhancer of Polycomb (Epc1/2) を介した染色体機能制御 Epc1 によるヒストンアセチル化の意義を明らかにするために、円形精子細胞においてヒストン高アセチル化がおこっている領域を ChIP-seq 法により同定し、精子におけるヌクレオソーム領域、DNA メチル化を受けている

領域等と比較する。また、アセチル化酵素の候補である Tip60 について、新たに作成したコンディショナルアレルを用いて、円形精子細胞におけるヒストン高アセチル化への寄与を明らかにする。

(2) 傍セントロメアヘテロクロマチン (PCH) を介した減数分裂制御メカニズムの解明

HP1g 欠損マウス及びコンディショナル G9a 欠損マウスの表現型の解析を行い、それらが減数分裂期のセントロメア制御を介してペアリング・シナプシスをプロモートすることを明らかにした。これらがペアリングの異常であるのか、常染色体のペインティングとテロメア FISH を組み合わせた解析と、10 遺伝子を用いた FISH により正確に評価する。PCH の機能異常がどのようにおこるのか、Miwi、Dnmt1、Np95 などの候補因子に焦点を絞って、それらのノックアウトマウスにおける PCH の機能の解析を行う。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Li X, Isono KI, Yamada D, Endo TA, Endoh M, Shinga J, Mizutani-Koseki Y, Otte AP, Casanova M, Kitamura H, Kamijo T, Sharif J, Ohara O, Toyada T, Bernstein BE, Brockdorff N, *Koseki H. (2011) Mammalian Polycomblike Pcl2/Mtf2 is a novel regulatory component of PRC2 that can differentially modulate Polycomb activity at both the Hox gene cluster and at Cdkn2a genes. **Mol Cell Biol.** 査読有
- ② Pereira CF, Piccolo FM, Tsubouchi T, Sauer S, Ryan NK, Bruno L, Landeira D, Santos J, Banito A, Gil J, Koseki H, Merkschlager M, *Fisher AG. (2010) ESCs require PRC2 to direct the successful reprogramming of differentiated cells toward pluripotency. **Cell Stem Cell.** 6:547-556. 査読有
- ③ Ku M, Koche RP, Rheinbay E, Mendenhall EM, Endoh M, Mikkelsen TS, Presser A, Nusbaum C, Xie X, Chi AS, Adli M, Kasif S, Ptaszek LM, Cowan CA, Lander ES, Koseki H, *Bernstein BE. (2008). Genomewide analysis of PRC1 and PRC2 occupancy identifies two classes of bivalent domains. **PLoS Genet.** 4:e1000242. 査読有

- ④ Endoh M., Endo T.A., Endoh T., Fujimura Y., Ohara O., Toyoda T., Otte A.P., Okano M., Brockdorff N., Vidal M., *Koseki H. (2008) Polycomb group proteins Ring1A/B are functionally linked to the core transcriptional regulatory circuitry to maintain ES cell identity. **Development** 135:1513-1524. 査読有

[学会発表] (計 10 件)

[図書] (計 1 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

①名称: 変異体 F G F

発明者: 古関明彦

権利者: 独立行政法人理化学研究所、国立大学法人千葉大学

種類: 特許

番号: 特願 2008-081826

出願年月日: 平成 20 年 3 月 26 日

国内外の別: 国内

②名称: ES 細胞の製造方法

発明者: 古関明彦

権利者: 独立行政法人理化学研究所

種類: 特許

番号: PCT/JP2011/058448

出願年月日: 平成 23 年 4 月 1 日

国内外の別: 国外