

平成29年2月

首浦武作志 学位論文審査要旨

主査 久郷裕之
副主査 多田政子
同 白吉安昭

主論文

Chromosomal distribution patterns of global 5mC and 5hmC on the ZZ/ZW and XX/XY chromosomes in the Japanese wrinkled frog, *Rana rugosa*, induced by Tet methylcytosine dioxygenase enzymes

(Tetメチルシトシンジオキシゲナーゼ酵素によって誘導されるニホンツチガエル*Rana rugosa*のZZ/ZW、XX/XY染色体上における全域的5mCおよび5hmCの分布パターン)

(著者：首浦武作志、三浦郁夫、多田政子)

平成27年 Chromosome Science 18巻 15頁～22頁

参考論文

1. Chromosome-wide regulation of euchromatin-specific 5mC to 5hmC conversion in mouse ES cells and female human somatic cells

(マウスES細胞およびヒト女性体細胞におけるユークロマチン特異的5mC-5hmC変換制御)

(著者：首浦武作志、岡野正樹、木村宏、川村文彦、多田政子)

平成24年 Chromosome Research 20巻 837頁～848頁

2. Dual-color fluorescence imaging to monitor CYP3A4 and CYP3A7 expression in human hepatic carcinoma HepG2 and HepaRG cells

(ヒト肝がんHepG2とHepaRG細胞におけるCYP3A4およびCYP3A7発現の二色蛍光モニター)

(著者：辻咲織、川村文彦、首浦武作志、林礼佳、大林徹也、香月康宏、Christophe Chesne、押村光雄、多田政子)

平成26年 PLOS ONE 9巻 DOI:10.1371/journal.pone.0104123

学位論文要旨

Chromosomal distribution patterns of global 5mC and 5hmC on the ZZ/ZW and XX/XY chromosomes in the Japanese wrinkled frog, *Rana rugosa*, induced by Tet methylcytosine dioxygenase enzymes

(Tetメチルシトシンジオキシゲナーゼ酵素によって誘導されるニホンツチガエル*Rana rugosa*のZZ/ZW、XX/XY染色体上における全域的5mCおよび5hmCの分布パターン)

DNAメチルシトシン(5mC)は代表的抑制型のエピジェネティクスとして知られ、マウスでは初期胚や細胞の脱分化時に、ゲノムワイドな5mC消去がしばしばみられている。5mCの脱メチル化機構として、Ten-eleven translocation(Tet)酵素による5-ヒドロキシメチルシトシン(5hmC)変換を起因とした経路がある。本研究では、ニホンツチガエルにおける5hmC変換領域を解析した。著者らは、先行研究においてユークロマチン領域に5hmC、ヘテロクロマチン領域に5mCが集積する特性を見出していることから、ニホンツチガエルにみられるXX/XY型とZZ/ZW型の性染色体多型において、性染色体の遺伝子量補正を示すような5mCおよび5hmCパターンの違いがメスのXXまたはオスのZZの間に存在する可能性を解析した。

方 法

成体ニホンツチガエルの血液細胞をPHA添加培養条件で培養後、M期中期染色体標本を製作した。染色体DNAを開鎖し、抗5mC抗体および抗5hmC抗体を用いて免疫染色を行った。5mC、5hmCの量的評価を行うため、ニホンツチガエルの有核赤血球を多量に含む血液サンプルからDNAを抽出し、Dot blot法を用いて定量解析を行った。

結 果

ニホンツチガエルの血液細胞においては、PHA処理によって5hmC変換が活性化されていた。また、姉妹染色分体の片側が5hmC陽性となる5mCの5hmC変換を介した脱メチル化に特徴的な染色像が得られたことから明らかとなった。さらに、ZZ/ZW型集団におけるZZとXX/XY型集団におけるXXには5mCおよび5hmCパターンに大きな違いは認められなかった。

考 察

ニホンツチガエルのPHA処理血液細胞では、5hmC変換が誘導され細胞周期依存的希釈が起

こっていた。PHAによる血液細胞のブラスト化は、一過性のTet酵素活性化を招き、リプログラミングに伴うDNAの脱メチル化が起こったと考えられる。性染色体間のDNAメチル化パターンの違いは無く、ZW間とXY間の遺伝的差異の集積が起こっていない可能性などがある。

結 論

ニホンツチガエルにおいても5mCの5hmC変換を介したDNAメチル化制御機構があったが、性染色体構成の異なるグループにおけるDNAのメチル化パターンに大きな差はなかった。XXとZZ片方の染色体の活性を抑制する遺伝子量補正の機構が進化していない可能性が高い。PHAによる血液細胞の脱メチル化誘導が哺乳類でも起きている可能性がある。Tet酵素が組織細胞の脱分化に一般的に関与しているとすれば今後のエピジェネティクス研究への発展が期待できる。