

氏 名	横峯 孝昭
学位（専攻分野）	博士（理学）
学位記番号	総研大甲第 864 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 24 日
学位授与の要件	生命科学研究科 遺伝学専攻 学位規則第 6 条第 1 項該当
学位論文題目	Comparative Analysis of Genomic Imprinting and DNA Methylation between Mammals and Chickens
論文審査員	主 査 教授 廣瀬 進 教授 広海 健 教授 斎藤 成也 助教授 角谷 徹仁 教授 都築 政起（広島大学）

## 論文内容の要旨

Genomic imprinting, the parent-of-origin-specific expression of genes, has been observed in a variety of eutherian mammals but its precise mechanisms and the reasons for its evolution are largely unknown. Previous studies revealed that *IGF2* and *MPR/IGF2R* are imprinted in eutherian mammals and marsupials but not in monotremes or birds. As a step to understand how genomic imprinting evolved and is regulated, I studied chicken (*Gallus gallus*), which is one of the best model animals among oviparous vertebrate species. First, I examined whether the chicken orthologues of mammalian imprinted genes other than *IGF2* and *MPR/IGF2R* show parent-of-origin-specific expression. I found that chicken *ASCL2/CASH4* and *INS* are biallelically expressed, further supporting the notion that imprinting evolved after the divergence of mammals and birds. Second, I carried out a comparative analysis of the *ASCL2/CASH4-INS-IGF2-H19* region for cis-regulatory elements involved in imprinting, between mammals and chickens. The *H19* imprinting center (IC) and many of the local regulatory elements identified in mammals were not found in chickens. Third, I attempted to clone and characterize the chicken DNA methyltransferase (*DNMT*) genes because DNA methylation has been shown to be involved in imprinting in mammals. I found that *DNMT3A*, a *de novo* methyltransferase gene essential for imprint establishment, is highly conserved in mammals and chickens. However, *DNMT3L*, a germ line-specific DNMT3-like protein essential for imprint establishment, was not present in chickens. Thus, many of the cis-regulatory elements involved in imprinting and some of the proteins essential for imprint establishment were missing in chickens. This study presents that the critical factors associated with imprinting probably evolved after the divergence of mammals and birds.

## 論文の審査結果の要旨

ゲノムインプリンティングは、哺乳類の父・母由来のアレル（対立遺伝子）間に発現差が生じるよう、配偶子形成過程においてゲノムに印づけをする現象である。以前の研究でIGF2、MPR/IGF2R遺伝子は真獣類、有袋類ではインプリントされており、単孔類、鳥類ではインプリントされていないことが分かった。ゲノムインプリンティングとその調節機構がどのように進化してきたのかを知るため、横峰君はニワトリを用いてほ乳類との比較研究を行った。はじめにIGF2、MPR/IGF2R以外のほ乳類のインプリント遺伝子のニワトリ相同遺伝子がインプリンティングを受けるか調べた。ニワトリASCL2/CASH4（ほ乳類では母親由来発現）とINS（ほ乳類では父親由来発現）は両対立遺伝子発現を示し、これは、ゲノムインプリンティングが鳥類とほ乳類が分岐した後で獲得されたことをさらに指し示す結果となった。次に、ASCL2/CASH4-INS-IGF2-H19領域のインプリンティングに関わるシスな調節領域についてはほ乳類、ニワトリ間の比較解析を行った。ほ乳類でインプリンティングの調節領域として同定されている配列をニワトリで見つけることはできなかった。最後にインプリント（印）の実体であると考えられているメチル化シトシンを生成する酵素、DNAメチル化酵素がほ乳類、鳥類間でどのように異なるか調べるため、ニワトリメチル化酵素の同定を行った。De novoメチル化酵素DNMT3A、DNMT3Bを同定することはできたが、ほ乳類でインプリンティングの獲得に必要な役割を果たすDNMT3Lは同定できなかった。今回の研究で多くのインプリンティングに関わるシス調節領域やインプリンティングの獲得に必要なタンパク質が鳥類では存在しないことが分かった。

この論文はほ乳類で見られるようなゲノムインプリンティングは、ほ乳類と鳥類の分岐の後に獲得されたことを示すもので、遺伝学専攻の博士論文としての条件を満たすことを審査員全員が認めた。