助成番号　210443	５－２

研 究 成 果 報 告 書

研究テーマ（和文）	ヒストン修飾クロストークを介した、生殖細胞運命を規定するエピゲノム動態の解明		
研究テーマ（英文）	Epigenome dynamics in regulation of germ cell development via histone modification crosstalk		
研究期間	2021年 ～ 2022年	研究機関名　ブリティッシュコロンビア大学	
研究代表者	氏名	（漢字）	望月研太郎
		（カタカナ）	モチヅキ　ケンタロウ
		（英文）	MOCHIZUKI, Kentaro
	所属機関・職名		ブリティッシュコロンビア大学, Medical Genetics・シニア研究員
共同研究者 ＊２名をこえる場合は、【別紙追加用紙】(P3)に３人目以降を追記してください。	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	ロリンツ　シー．　マシュー
		（英文）	LORINCZ, C. Matthew
	所属機関・職名		ブリティッシュコロンビア大学, Medical Genetics・教授
	氏名	（漢字）	
		（カタカナ）	シャリフ　ジャファー
		（英文）	SHARIF, Jafar
	所属機関・職名		理化学研究所, 生命医科学研究センター・専任研究員

概要（600 字～800 字程度にまとめてください。）

生殖細胞遺伝子は、生殖細胞としての発生分化に関与する一連の遺伝子群であり、現在 150 個程度の遺伝子が同定されている。興味深いことに、生殖細胞遺伝子群は各種の腫瘍細胞でも高い発現が認められることから、体細胞系譜における生殖細胞遺伝子群の異所的な発現は腫瘍化のリスクとの関連が強く示唆されている。さらに、生殖細胞の発生分化過程においても、各生殖細胞遺伝子の発現開始のタイミングが極めて重要であり、それらの早熟な発現は先天性不妊の原因になる。本研究では、生殖細胞遺伝子群の発現抑制にタンパク質複合体 PRC1.6 が必要十分であることを確かめた。

PRC1.6 の中心因子である *Pcgf6* 遺伝子を条件的にノックアウト（cKO）できる *Pcgf6*-cKO の ESC に加え、H3K9me3 を付与するヒストンメチル基転移酵素遺伝子 *Setdb1*、H2AK119ub1 を付与するヒストンユビキチン化酵素遺伝子 *Ring1b*（およびそれらの二重(cD)KO）、ならびに DNA メチル化を付与する DNA メチル基転移酵素遺伝子群 *Dnmt3a/b* を cKO できる ESC を用いた。初期胎仔発生過程を模倣するため、胚性幹細胞（内部細胞塊に相当）からエピブラスト模倣細胞を誘導する試験管モデル系を採用し、RNA シークエンス(RNA-seq)解析を行った。その結果、*Pcgf6*-cKO における生殖細胞遺伝子群の早熟な発現抑制解除は、その他の各 cKO または cDKO との比較で同等かそれ以上であることを確認した。

今回の結果から、着床の前後で、生殖細胞遺伝子群は、まず PRC1.6 を介して、RING1B/H2AK119ub1 および SETDB1/H3K9me3 によって抑制され、その後に DNMT3AB/DNA メチル化が発現抑制に参加することが示唆された。本研究で得られた知見は、将来的に腫瘍や不妊の原因究明、予防や治療の新たな足がかりとなることが期待される。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）						
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
雑誌	論文課題					
	著者名		雑誌名			
	ページ	～	発行年		巻号	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	
図書	書名					
	著者名					
	出版社		発行年		総ページ	

英文抄録（100 語～200 語程度にまとめてください。）

Germline genes are a group of genes involved in developmental differentiation as germ cells, and currently about 150 genes have been identified. In this study, we confirmed that the protein complex PRC1.6 is sufficient to suppress the expression of a group of germline genes.

In addition to the ESCs with conditional knockout (cKO) of *Pcgf6*, a central factor of PRC1.6, we utilized the cKO ESC lines for the histone methyltransferase gene *Setdb1*, which deposits H3K9me3, histone ubiquitination enzyme gene *Ring1b*, which deposits H2AK119ub1 (and their double (cD)KO), and DNA methyltransferase genes *Dnmt3a/b*, which deposit DNA methylation. To mimic the process of early embryonic development, we employed an *in vitro* model system in which epiblast-like cells were induced from embryonic stem cells (corresponding to internal cell mass), and RNA sequencing analysis was performed. The results confirmed that the premature de-repression of germline genes in *Pcgf6*-cKO was equivalent to or greater than that in the other cKOs or cDKO.

The present results suggest that before and after implantation, the germline genes are first repressed by RING1B/H2AK119ub1 and SETDB1/H3K9me3 via PRC1.6, followed by DNMT3AB/DNA methylation participating in the repression. The findings of this study are expected to provide a new steppingstone for the future investigation of the causes, prevention and treatment of tumors and infertility.