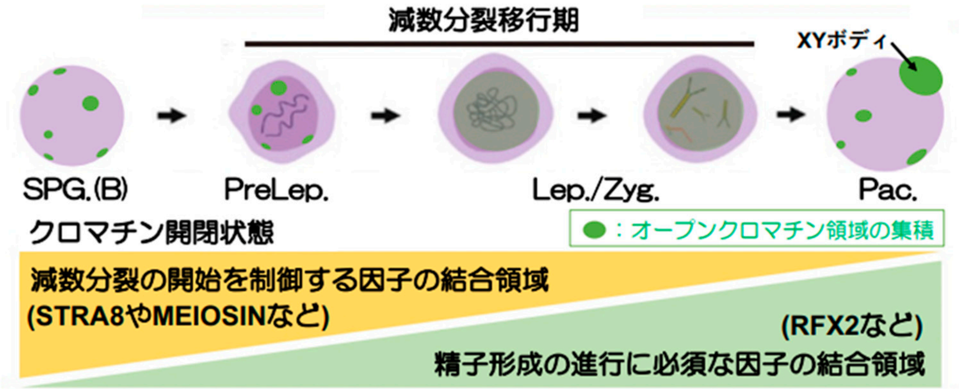
49	哺乳類精子形成期における細胞運命決定機構の解明	前澤　創

【目的】 生殖細胞系列は、初期胚発生における運命決定、配偶子への分化、受精を介した個体発生、全能性の再獲得といったサイクルにより、生命の次世代への継承を担う。配偶子形成期において、生殖細胞は細胞分裂を繰り返して細胞数を増やし、ある時期が来ると減数分裂を起こし、やがて精子もしくは卵に分化する。生殖細胞特有の現象である減数分裂は、種の多様性を生み出すと共に、配偶子形成に不可欠なプロセスである。配偶子形成期において、生殖細胞が分化し減数分裂期へ移行する際には、数千もの遺伝子発現が変化し、体細胞型の遺伝子発現プロファイルから配偶子形成期特有の遺伝子発現プロファイルへと切り替わる。これまでに我々はマウス精子形成期をモデルに、減数分裂移行期の前後でみられる大規模な遺伝子発現変化が、生殖細胞特異的なエピゲノム変化及びクロマチン構造変化によってもたらされることを明らかにした。しかし、このような精子形成の進行に必須な遺伝子発現パターンの切り替えが、減数分裂期への移行と進行の過程で、どのような段階を経て調節されているかは不明であった。そこで本研究では、減数分裂移行期の分化段階に焦点を当て、精子形成の進行に重要な遺伝子発現を制御するクロマチン動態の解明を目的とした。

【方法】 減数分裂移行期にあたる分化段階の生殖細胞をマウス精巣からセルソーターを用いて分取し、Omni ATAC-seq法を用いたオープンクロマチン解析を行った。クロマチン開閉状態の意義を明らかにするために、ChIP-seq 法による転写因子の結合領域およびエピジェネティックマークの分布との比較解析を行った。分化進行に伴うオープンクロマチン領域の局在変化を可視化するために、ATAC-see 法と免疫染色法を組み合わせた細胞イメージング解析を行った。

【結果】 マウス精巣より単離した減数分裂移行期の生殖細胞では、分化の進行に伴って数万領域ものクロマチン開閉状態が段階的に変化していた。これらの領域には、複数の転写因子結合モチーフが含まれており、特にプレレプトテン期からレプトテン期精母細胞へと分化が進行する過程で、顕著なクロマチン開閉状態の切り替えが生じていた。精原細胞で機能する転写因子および減数分裂の開始を制御する転写因子の結合領域は減数分裂移行期に凝集する傾向にあった。一方で、減数分裂期および減数分裂後に機能する転写因子の結合領域は減数分裂移行期に弛緩する傾向にあった。ATAC-see 法を用いてオープンクロマチン領域の空間配置を可視化したところ、減数第 1 分裂前期に生じる相同組換えの前後の時期でオープンクロマチンクラスターが観察されたことから、ゲノム中の転写活性化領域が集積していることが示唆された。驚くべきことに、精母細胞の性染色体不活化領域（XY body）においてもオープンクロマチンクラスターが観察された。性染色体特異的に形成されるオープンクロマチンは、PRDM9 依存的な SPO11 による DNA2 本鎖切断を起点に、性染色体全体に生じていることが示唆された。XY body は、DNA 損傷応答修復（DDR）因子が性染色体へ集積することで形成され、精子形成の正常な進行に必須である。本研究より、クロマチン凝集を伴わない転写不活化機構が、性染色体不活化の過程で機能していることが明らかになった。

減数分裂移行期における、クロマチン開閉状態変化を伴った転写因子結合領域の切り替わり