



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on regulatory mechanisms at the testis-specific Tcam1/TCAM1P gene locus in mouse and human [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	栗原, 美寿々
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第11840号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58753
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Misuzu_Kurihara_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（生命科学） 氏 名 栗原 美寿々

学 位 論 文 題 名

Studies on regulatory mechanisms at the testis-specific *Tcam1*/*TCAM1P* gene locus in mouse and human

(マウスとヒトにおける精巣特異的遺伝子 *Tcam1*/*TCAM1P* の発現調節機構に関する研究)

マウスはヒトの代表的なモデル動物としてこれまで様々な研究に用いられてきた。マウスとヒトでは大部分の遺伝子が保存されており、その制御機構も 2 種で多く一致している。しかしながら、ヒトとマウスは分岐過程でゲノム配列が大きく変化しており、すべての遺伝子の制御機構が 2 種で保存されているわけではない。

Testicular Cell Adhesion Molecule (TCAM1P) 遺伝子はヒト 17 番染色体上に存在し、マウス *Tcam1* が細胞接着因子をコードしていたのに対し、ヒトでは偽遺伝子となっていた。これまで偽遺伝子は機能や発現を失った配列と考えられてきたが、近年、多くの偽遺伝子が RNA 分子として発現していることが確認されている。そこでまずマウスとヒトの組織における *Tcam1*/*TCAM1P* の発現を調べたところ、2 種において *Tcam1*/*TCAM1P* は精巣特異的な発現を示すことが明らかとなった。*TCAM1P* は偽遺伝子化後も組織特異性を維持していたことから、本研究ではマウスとヒトを用いて *Tcam1*/*TCAM1P* の制御機構を比較解析することで、発現制御機構の共通性や相違性を明らかにすることを目指した。

第 1 章 マウス *Tcam1* 遺伝子の解析

第 1 章ではマウス *Tcam1* 遺伝子の制御機構について解析を行った。マウス *Tcam1* は精巣内で精母細胞特異的に発現することがこれまで分かっていた。そこで、その発現制御に関わる領域の探索を行うため、遺伝子の調節配列として働くことが知られる、種を超えて保存された非翻訳領域(Conserved Noncoding Sequence : CNS)に注目して解析した。ヒストン修飾パターンの解析やレポーター解析の結果、*Tcam1* 遺伝子 5' 上流に存在する CNS1 配列が精母細胞特異的なエンハンサーとして機能することが強く示唆された。さらに、CNS1 は両方

向に強いプロモーター活性を有し、*Tcam1*が隣接する *Smardcd2* 遺伝子と、本研究において新たに発見された精巣特異的 long noncoding RNA (*lncRNA-Tcam1*)のプロモーターとしても機能することが判明した。このことからマウス CNS1 はプロモーターかつエンハンサーとして機能する dual promoter-enhancer (DPE) 配列であることがわかった。

第2章 ヒト *TCAM1P* 遺伝子の解析

第2章ではヒト *TCAM1P*の発現を解析するとともに、ヒト-マウス間で保存された配列である CNS1 がヒトにおいてもマウスと同様の活性を持つかどうか解析した。まず、*TCAM1P*の精巣内における発現を調べた結果、*TCAM1P*は生殖細胞全体に発現していることが判明した。一方、レポーター解析の結果、ヒト CNS1 はマウス CNS1 と同様に *TCAM1P*プロモーターのエンハンサーとして働くとともに *SMARCD2* 遺伝子プロモーターとしても働くことが判明した。このことから、ヒト CNS1 も DPE 配列として機能する可能性が明らかとなった。しかし、マウス CNS1 が精母細胞特異的なエンハンサーであったのに対し、ヒト CNS1 は細胞種非特異的な活性を示していたことから、CNS1 に結合する因子は2種において異なっていることが予想された。また、ヒト CNS1 周辺領域からは複数の精巣特異的な lncRNA が発現していたがヒト CNS1 をプロモーターとする転写産物を見つけることはできなかった。このことからヒト CNS1 が一方向性プロモーターとして機能している可能性が考えられた。

本研究により、*Tcam1/TCAM1P* 遺伝子はマウスとヒトにおいて精巣特異的な発現を示し、その活性化には種を超えて CNS1 が関与している可能性が示された。しかし、マウス *Tcam1* が精母細胞特異的な発現を示していたのに対し、ヒト *TCAM1P*は生殖細胞全体に発現していた。また、転写活性化に関わる CNS1 が DPE 配列として働く際の分子メカニズムも2種間で異なっていることが予想された。以上の結果から、偽遺伝子化に伴い *TCAM1P*の精巣内での発現が変化し、同時に制御機構もマウスからヒトにかけて変化してきたことが予想された。本研究は組織特異性が維持された遺伝子の発現制御が進化過程で変化している可能性を示すとともに、偽遺伝子化前後での遺伝子発現や調節機構を比較解析した初めての研究である。