

論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名 竹俣直道

真核生物では、タンパク質情報をもたない長鎖の RNA (長鎖非コード RNA、lncRNA) が多数転写されている。lncRNA は、かつては機能をもたないジャンク分子だと考えられていたが、近年になって遺伝子発現制御などに関わることが明らかにされ、注目を集めている。lncRNA の多くは、プロモーターやエンハンサーなどの遺伝子制御領域から転写されている。これらの lncRNA は、遺伝子制御領域の機能を調節することで遺伝子発現に影響すると考えられているが、このよう制御がどのような分子メカニズムで行われるのかはほとんど明らかにされていない。

分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の糖新生遺伝子 *fbp1*⁺ では、グルコース飢餓に応答してプロモーター領域から *mlon*RNA (metabolic stress-induced long noncoding RNA) と呼ばれる lncRNA が転写される (Hirota et al. 2008; Galipon et al. 2013)。この転写は、クロマチンの脱凝縮を促進することで *fbp1*⁺ mRNA の転写を活性化する。また、*fbp1*⁺ 以外のストレス応答遺伝子においても、同様の lncRNA 転写がグルコース飢餓時に観察されている (Oda et al. 2015)。

本論文では、*mlon*RNA および他のプロモーター領域から転写される lncRNA が、どのような分子メカニズムでクロマチン構造や遺伝子発現を制御するのかを検証した。第 1 章では、*mlon*RNA の転写がストレス応答性転写因子 Atf1 の DNA 結合を促進することで、クロマチン脱凝縮や遺伝子発現を活性化することを明らかにした。一方、Atf1 は *mlon*RNA の発現を活性化するのに必要であったことから、*mlon*RNA の転写と Atf1 の結合は互いを促進することで正のフィードバックを形成することが示唆された。

本論文の第 2 章では、Atf1 の結合を促進する lncRNA が *mlon*RNA 以外にも存在するかを検証するために、超並列 DNA シーケンサーを用いたクロマチン免疫沈降を行い、Atf1 の結合をゲノム全域で調べた。その結果、転写阻害剤によって Atf1 の結合が阻害される領域 (転写誘導性部位) を 50 カ所同定した。多くの転写誘導性部位では、lncRNA の発現に伴って Atf1 の結合やクロマチン脱凝縮が促進されていた。このことから、多くの転写誘導性部位では *fbp1*⁺ と同様、近

傍から起こる lncRNA 転写が Atf1 の結合を促進することで、クロマチン脱凝縮が引き起こされることが示唆された。

第3章では、lncRNA が Atf1 の結合を促進するメカニズムをさらに検証した。まず、進化的に保存された転写コリプレッサーである Tup11・Tup12 が、Atf1 の DNA 結合を抑制することを見出した。また、mlonRNA の転写は Tup11・12 の機能を阻害することで、*fbp1*⁺領域での Atf1 結合を促進していた。このメカニズムの一般性を検証するために、*tup11Δ tup12Δ*二重破壊株での Atf1 の結合をゲノム全域で解析した。その結果、転写と Tup11・12 は、*fbp1*⁺以外の遺伝子の転写誘導性部位においても Atf1 の結合を拮抗的に制御することが明らかになった。これらの遺伝子のプロモーター領域からは lncRNA が転写されており、その多くが Tup11・12 と *in vivo* で相互作用していた。以上から、lncRNA が Tup11・12 に結合してその機能を阻害することで、Atf1 の結合を促進するというモデルの提唱に至った。さらに、mlonRNA と Tup11・12 が Atf1 の結合を制御することで、*fbp1*⁺の発現がグルコース飢餓ストレスによってのみ活性化されるよう保証されていることを示した。

以上から、プロモーター領域から転写される lncRNA は、転写因子の結合を制御することで、ストレス選択的な遺伝子発現応答を引き起こすことが示唆された。

本研究は、lncRNA の遺伝子発現制御における新たな分子メカニズムを明らかにしたほか、その機構のゲノム規模での検証に成功している。また、ストレス応答における lncRNA の重要性について、従来想定されていなかった新概念の提案を行っており、当該分野の発展に重要な学問的貢献を行った。本論文の研究内容は、論文提出者が主体となって実施したものである。以上から、本審査委員会は論文提出者を博士（学術）の学位を授与するにふさわしいものと認定する。