

論文審査の結果の要旨

氏名 三木敦子

近年の大規模なトランスクリプトーム解析から、様々な生物でアンチセンス RNA(asRNA)を含む非コード RNA(ncRNA)が転写されていることが示された。ストレス応答に関わる遺伝子領域には、その逆鎖から asRNA が非ストレス条件下で発現していることが知られていたが、その性状や局在などはほとんど不明であった。

本研究は分裂酵母のグルコース飢餓ストレス応答遺伝子から転写される asRNA に着目し、まず *fbp1* 領域から生成される asRNA(*fbp1-as*)を例として、その性状や局在を明らかにした。次に、他のグルコースストレス応答性を示す遺伝子領域 (*per1* 領域) から転写されている asRNA にも検証を行い、同様の性状を有する asRNA の存在を確認した。さらには、*fbp1-as* 自体の転写制御とセンス鎖 RNA の転写制御における役割を検討した。本論文は「序論」「材料と方法」「結果」「考察」から構成され、以下にその概要を述べる。

「序章」においては本研究課題に関連する先行研究を引用しながら、本研究の目的および意義について述べられている。まず、ncRNA や asRNA の定義および作用機構についてまとめられている。さらにモデル生物である分裂酵母のストレス応答機構、RNA の品質保証系、さらに最近開発された手法によって ncRNA の定義が現在新た注目されていることを述べている。また転写とヒストン修飾について述べることで本研究に必要な背景を説明している。

「材料と方法」では本研究課題に関する研究方法について説明している。

本研究の「結果」は3章に分けられており、はじめに第一章では本研究でモデル遺伝子座 *fbp1* 領域から転写される *fbp1-as* の特徴を調べた。その結果、*fbp1-as* は通常の mRNA と同様、5'キャップ構造とポリ A 鎖を持つことが分かった。さらに局在を一分子 FISH(smFISH)で調べたところ、核内と細胞質内ともに局在が見られた。また、半減期を測定したところ *fbp1-as* は非常に不安定な転写物であった。

次に第二章では *fbp1-as* の迅速な分解がどのような RNA 品質保証系経路によって制御されているのか、種々の RNA 品質保証系因子の破壊株を用いて解析した。その結果、*fbp1-as* は核内の Rrp6 によって分解されているが、核内の分解

を免れた *fbp1-as* が細胞質内に移行し Exo2 による分解を受けることがわかった。

fbp1-as は mRNA 様の性状を有すが、細胞質内での *fbp1-as* の挙動をポリソーム分画法や、リボソームプロファイリングの先行研究データを使用した解析を行い、*fbp1-as* がリボソームと結合すること、また翻訳と共役した分解を受けていることを明らかにした。

さらに、先行研究の RNA-seq で同定されていた *fbp1-as* に類似した転写物に注目し、その安定性制御やリボソーム結合を解析した。とくにノザン解析で検出が可能だった *per1* 領域の asRNA について詳細に解析し、*fbp1-as* 同様にリボソームに結合し、翻訳と共役した分解によって制御されることが示された。

第三章では、*fbp1-as* 自体の転写制御に関し、*fbp1-as* の安定性がストレス暴露前後で大きく変わらないこと、Set1 を介したヒストン修飾あるいはクロマチンレベルで恒常的に低レベルの転写が生じていること、グルコース飢餓時に 5' 側に Set1 が集積し、これをきっかけに転写方向が反転すること、さらにその状況下で *fbp1-as* の合成量が抑制されることなどを見出した。

「考察」では、上記の結果を踏まえ、恒常的に asRNA が合成・分解される意義、ヒストン修飾による asRNA の制御、ストレス応答遺伝子領域でこれらの asRNA が発現する意義について、先行研究を引用しながら、asRNA の発現のストレス応答における役割に関するモデルを提案し、多方面から論じられた。

本研究はストレス応答性遺伝子から発現される asRNA の性状をはじめて明らかにした点、さらにクロマチン・エピゲノム制御によるアンチセンスとセンス RNA の転写の切り換え制御という概念の提示、またそのストレス応答遺伝子発現における意義を示した点で、当該分野において重要な意義を果たしたといえる。

なお、本論文の結果の第一章と第二章は Josephine Galipon、澤井哲、稲田利文、太田邦史との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験および解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上から、審査委員会は、本研究が学位を授与するに相応しいと判断し、博士(理学)の学位を授与できると認めるに至った。