

論文審査の結果の要旨

氏名 小田 有沙

生物の細胞では多種の非コード RNA(ncRNA)が転写されている。そのうち、200 ヌクレオチドを超える長さを有する長鎖 ncRNA(lncRNA)は、クロマチンやヒストン修飾を介して高次の生命現象に関わる。このような lncRNA の中には、発生や細胞制御などにおける役割が報告されているものもあるが、多くは未だ機能が解明されていない。

本研究は、分裂酵母でストレス応答時に転写される lncRNA の発現動態と転写の適応的意義について検証を行ったものである。先行研究により、グルコース飢餓ストレス応答性時に分裂酵母で見られる lncRNA の一つに、糖新生酵素 *fbp1*⁺ 遺伝子発現制御に重要な役割を果たす lncRNA が存在することが明らかにされてきた。本研究では、トランスクリプトーム解析により、*fbp1*⁺ 領域で見られる lncRNA と類似の転写産物を同定した。さらに、これらの領域の多くでアンチセンス lncRNA も発現されていることを見だし、*fbp1*⁺ 領域におけるアンチセンス lncRNA 依存的な遺伝子発現メカニズムの検証を行った。また、これらのセンス・アンチセンス lncRNA 依存的な遺伝子発現制御を数理モデル化することにより、ストレス応答時の lncRNA 依存的な発現メカニズムの適応的な意義を論じた。以下に本論文の構成と概要を述べる。

本研究は主に、「序章」、「結果」、「材料と方法」、「考察」から成る。

「序章」においては、本研究課題に関連する先行研究と研究の意義についてまとめられている。まず、生物の転写制御とクロマチン構造について、また、機能性 ncRNA 及び lncRNA の作用機構についてまとめられている。続いて、環境変動適応時の遺伝子及び lncRNA 発現応答及び、シグナリングカスケードについての背景が説明されている。次に、本研究で分裂酵母をモデル生物として用いることの優位性、システム生物学的な観点から遺伝子発現ダイナミクス研究を行うことの意義が記載されている。

本研究の「結果」は 3 章に分けられており、第 1 章は「分裂酵母のグルコース飢餓ストレス応答のゲノムワイド解析」、第 2 章は「長鎖非コード RNA を介した糖新生遺伝子 *fbp1*⁺ の発現制御機構」、第 3 章は、「*fbp1*⁺ 遺伝子発現制御の数理モデル」について述べている。

第 1 章では分裂酵母の lncRNA と類似の lncRNA をゲノムワイドな応答が解析されている。ここでは、グルコース飢餓応答初期における mRNA や ncRNA の発現動態を、クロマチン構造変化と関連づけて解析し、一群の lncRNA で他

のストレス遺伝子と類似の制御が見られることを示した。また、RNA-seq の波形パターンを統計的に解析し9つの領域で *fbp1+* lncRNA と同じ性質を持つ転写産物の同定に成功した。さらに、グルコースが豊富な条件下で *fbp1+*領域や、その多くの lncRNA 候補領域でアンチセンス lncRNA が、センス鎖 lncRNA や mRNA と相反的に転写されることも示された。

第2章では、*fbp1+* アンチセンス lncRNA に着目し、遺伝子発現制御におけるその機能が詳細に解析されている。ここでは、グルコース濃度の低い状態から高い状態に環境が変動した時に、アンチセンス lncRNA が mRNA の素早い発現抑制に関与していることを示した。この解析では、アンチセンス lncRNA の強制発現系や RNA 転写阻害剤であるフェナントロリンを用いた発現抑制系、二本鎖 RNA 分解酵素である Dicer の変異体などを用いてことをアンチセンス lncRNA が mRNA の分解に関与することを明らかにした。また、アンチセンス lncRNA 強制発現系を用いた ChIP-qPCR の実験から、mRNA の転写にアンチセンス RNA が影響を及ぼすことを述べている。

第3章では、*fbp1+*において見られるセンス・アンチセンス lncRNA 依存的な遺伝子発現制御の過程に関して数理モデルを構築し制御機構のシミュレーションを行った。

「材料と方法」では、本研究課題にする研究方法について説明がなされている。「考察」では、まず、分裂酵母の栄養ストレス応答について俯瞰的に論じている。続いて *fbp1+*アンチセンス lncRNA の発現抑制作用機構を詳細に論じている。さらに、センス・アンチセンス lncRNA 依存的な遺伝子発現制御の数理モデルを通じて、lncRNA 依存的な遺伝子発現制御がもたらす生命の環境変動への適応的な意義を提唱している。

本研究は、分裂酵母のトランスクリプトーム解析においてストレス応答性の lncRNA を同定した点、*fbp1+*領域においてアンチセンス lncRNA 依存的な mRNA の素早い発現抑制メカニズムを詳細に明らかにした点、センス・アンチセンス lncRNA 依存的な遺伝子発現制御の過程に関して数理モデルを構築し適応的な意義を考察した点で、多面的な観点から、当該分野において学問的に極めて重要な貢献を果たしたと考えられる。本論文の内容の一部は、既に論文提出者が筆頭著者となる論文として、学術誌に掲載が決定している。なお、本論文第1章は、竹俣 直道、平田 祥人、三好 知一郎、鈴木 穰、菅野 純夫、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分析及び検証を行なったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上から、審査委員会は全員一致で小田有沙に博士（理学）の学位を授与できると判断した。