



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on Functions of the Heterochromatin Factor Epe1 to Regulate Epigenetic Diversification [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	反田, 真登
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第13805号
Issue Date	2019-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/75850
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Masato_Sorida_review.pdf, 審査の要旨



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（理学） 氏名 反田 真登

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	村上 洋太
	副査	教授	藤田 恭之
	副査	教授	松本 謙一郎
	副査	教授	高岡 晃教

学 位 論 文 題 名

Study on Functions of the Heterochromatin Factor Epe1 to Regulate Epigenetic Diversification

(エピジェネティックな多様化を制御するヘテロクロマチン因子 Epe1 の機能に関する研究)

真核生物のゲノム DNA はヒストン八量体に巻き付けられ、コンパクトに核内に収納される。ヒストン八量体はヒストン H2A、H2B、H3、H4 の各 2 分子で構成され、これに DNA が巻きついた構造体をヌクレオソームという。ヒストンの翻訳後修飾は細胞内で起こる様々な生命現象に関与することが知られている。ヒストン H3 の 9 番リジン残基のメチル化 (H3K9me) は進化的に保存されたヘテロクロマチン形成の指標である。ヘテロクロマチンは DNA とヒストンが高度に凝集した構造体であり、K9-メチル化ヒストンに結合する因子 HP1 (Heterochromatin Protein 1) がヌクレオソームの密度を高めることで形成される。ヘテロクロマチンは、その凝集構造が内部の遺伝子への転写装置のアクセスを制限するため、転写抑制的な性質を持つ。ヘテロクロマチンが形成されるゲノム領域は特定の箇所に制限されるが、ヘテロクロマチンの分布を制御する分子機構は十分には理解されていない。分裂酵母は H3K9me を介したヘテロクロマチン形成機構を持つ単細胞生物であり、高等真核生物に比べて機能的に重複する遺伝子が少なく遺伝学的操作が容易であることから、ヘテロクロマチン形成経路の研究に多用されてきた。分裂酵母 Epe1 (Enhancer of Position Effect 1) はヒストン脱メチル化酵素に共通の JmjC (Jumonji C-terminal) ドメインを持つタンパク質である。Epe1 は HP1 の分裂酵母ホモログ Swi6 に結合し、H3K9 の脱メチル化を遂行すると予想されている。本研究では、Epe1 欠損および変異体によって誘導される表現型に注目し、ヘテロクロマチン形成パターンを制御する分子機構の解明を目指した。学位論文では全 5 章で構成されている。

Intorouction では本研究に関する上記研究背景と目的を記述している。

第 1 章では、Epe1 欠損により異所的ヘテロクロマチン形成が偶発的に起こり表現型に影響を与えることを示している。赤色色素が蓄積する分裂酵母の突然変異系統において *epe1* 遺伝子を欠損させると赤白まだらのコロニーが出現した。白色のコロニーを単離すると、大部分は白色を維持しながら部分的に赤色に戻るコロニーが出現した。この結果から、赤白まだらの表現型は DNA 配列の変化ではなくエピジェネティックな変化に起因することが示唆された。そこで、赤と白のコロニー単離株それぞれに対してクロマチン免疫沈降法によるゲノムワイドな H3K9me の分布の解析を行ったところ、白色表現型の原因のひとつは赤色色素合成経路の遺伝子座に異所的に形成されたヘテロクロマチンであった。さらに、色素合成に無関係の領域でも偶発的に異所的ヘテロクロマチン形成が認められ、その形成パターンは単離したクローンごとに異なっていた。これらの結果から、Epe1 は偶発的な異所的ヘテロクロマチン形成を抑制し、ゲノムワイドなエピジェネティック状態のばらつきを制限することが示唆された。

第 2 章では、Epe1 が JmjC ドメインとは異なるドメインを使い、異所的ヘテロクロマチン形成抑制を初期段階で行うことを報告している。Epe1 の機能未知の N 末端 171 アミノ酸領域を欠損させると、赤白まだらのコロニーが出現した。しかし、ピンクおよび白色コロニーの出現頻度は Epe1 欠損よりも低かった。この領域は分裂酵母および出芽酵母において転写活性化能を示し、NTA (N-terminal Transcriptional Activation) ドメインとして新規に同定した。これらの結果から、NTA ドメインがその転写活性化能を介して異所的ヘテロクロマチン形成の抑制に関与することが示唆された。*epe1* 欠損によって生じた異所的ヘテロクロマチン保有株に *epe1* 野生型アリルを導入したところ、大部分の

異所的ヘテロクロマチンは除去された。Epe1 の JmjC ドメインの保存されたアミノ酸に点変異を導入し Epe1H297A 変異体は異所的ヘテロクロマチンを除去しなかった。しかし、Epe1H297A 変異株は野生型 Epe1 株と同様に赤色コロニーを形成し、赤白まだらの表現型を示さなかった。この結果は、JmjC ドメインは既存の異所的ヘテロクロマチンの除去には必要だが、形成の初期段階での抑制には要求されないことを示唆している。

第3章では、Epe1 による脱メチル化による異所的ヘテロクロマチンの消去についての解析を述べている。上記野生型 *epe1* アリルの導入実験において、一部の異所的ヘテロクロマチンが残存することが判明した。この残存領域には、Epe1 存在下ではヘテロクロマチンを構築できないが一旦構築されたヘテロクロマチンの維持には貢献する、潜在型 H3K9me 供給配列の存在が認められた。Epe1 過剰発現アリルを導入すると、残存ヘテロクロマチンは消失した。これらの結果から、Epe1 はヘテロクロマチン形成の予防には効率的に機能するが、既成のヘテロクロマチンに対しては発現量依存的に除去をおこない、通常量では十分に除去機能を発揮し得ないことが示唆された。この機構が異所的ヘテロクロマチンの部分的な残存を許容し、エピジェネティックな差異を生み出したと考えられる。

最終章では結果のまとめと考察を行っている。Epe1 は NTA ドメインを介して異所的ヘテロクロマチン形成を初期段階で抑制する一方、これを通過して成熟したヘテロクロマチンに対しては JmjC ドメインを介した H3K9me 除去機能で対応すると考えられる。さらに、Epe1 の JmjC ドメインを介した除去は必ずしも徹底的ではない。これらの性質が Epe1 を単純な抗ヘテロクロマチン因子ではなく、ゲノムワイドな H3K9me 状態の恒常性と可変性のバランスを保ちエピジェネティックな多様性を制御する因子として機能させていると考えられる。

以上の内容は、査読付き欧文科学誌である Plos Genetics に掲載され、エピジェネティクス研究に新規知見を与えた成果として高く評価されることから、博士（理学）の授与に値すると判断する。