



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on Contribution of Trimethyl Guanosine Synthase Tgs1 to Heterochromatin Formation in Fission Yeast [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	愉, 彦樺
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(総合化学)
Dissertation Number	甲第14613号
Issue Date	2021-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/82286
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	YU_Hiroki_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（総合化学） 氏名 愉 彦樺

審査担当者	主査	教授	坂口 和靖
	副査	教授	村上 洋太
	副査	特任教授	高木 睦
	副査	教授	高岡 晃教

学 位 論 文 題 名

Study on Contribution of Trimethyl Guanosine Synthase Tgs1 to Heterochromatin Formation in Fission Yeast
(トリメチルグアノシン合成酵素 Tgs1 の分裂酵母ヘテロクロマチン形成での役割に関する研究)

本学論文は分裂酵母をモデル生物として用いて、RNAi 機構によるヘテロクロマチン形成におけるトリメチルグアノシン (TMG) キャップ修飾酵素 Tgs1 の機能の解明を目指した物で、七章からなる。

第一章では、本学位論文の総括的な背景として、遺伝子発現の調節に重要であるヘテロクロマチン構造とその形成メカニズム特に RNAi に依存する形性システムおよび本学位論文の中心となるトリメチルグアノシンキャップ修飾 (TMG) 酵素 Tgs1 についてまとめている。

第二章では、*tgs1* 遺伝子破壊によってヘテロクロマチンが部分的に崩壊した表現型が得られ、実際に一部の細胞でヘテロクロマチン形成マーカーである H3K9me レベルも低下していることを示している。さらに、同様の表現型が Tgs1 の触媒ドメインの変異体でもえられることからヘテロクロマチン形成に Tgs1 による RNA の TMG キャップ修飾が重要であることが示された。

第三章では、ヘテロクロマチンの新規形成における Tgs1 の関与について述べた。H3K9me 修飾酵素である *clr4* 遺伝子の破壊した後、再導入することでヘテロクロマチン新規形成について調べることが出来る。この *clr4* 遺伝子破壊再導入した株を用いた実験の結果から、Tgs1 は効率的な新規 H3K9メチル化修飾に必要であることが示された。

第四章では、Swi6 非依存的な siRNA 産生における Tgs1 の寄与について述べた。ヘテロクロマチンは Swi6 を介した RNAi 経路による siRNA 産生と H3K9me 修飾の自己強化ループによって形成・維持されるが、Swi6 に依存しないも siRNA 産生もおこることが知られている。Tgs1 による siRNA 産生について調べた結果、Tgs1 と Swi6 は互いに独立して siRNA 産生に寄与しており、いずれかの単独破壊では siRNA 産生及び H3K9me に大きく影響しないが、*tgs1* と *swi6* の両破壊によって siRNA, H3K9me が消失することが示された。これらの結果から、Tgs1 は Swi6 には依存しない siRNA 産生に関与しており、互いにバックアップのようなシステムになっていることが示唆された。

第五章では、Tgs1 欠損によるスプライシング効率への影響について述べた。スプライシングをおこなう複合体 (spliceosome) の構成成分である U RNA は snRNA に属し、Tgs1 により TMG 修飾をうけることが知られている。そのため種々に生物で Tgs1 欠損が一部遺伝子のスプライシング異常を引き起こることが知られている。本章では分裂酵母でも U RNA が Tgs1 による TMG 修飾を受けていることを示すとともに、一部遺伝子でスプライシング効率が低下することを示した。特に、ヘテロクロマチンでの RNAi 経路の機能に必須のヘテロクロマチン non coding RNA (hnc RNA) のもつ cryptic intron のスプライシング効率も Tgs1 欠損により変化する事がわかった。hncRNA がもつ cryptic intron 上に形成される spliceosome が RNAi 因子を呼び込み siRNA 合成に寄与することが先行研究により示されているので、Tgs1 による TMG キャップ修飾が hncRNA 上に形成される spliceosome の安定化に寄与する可能性が考えられる。

第六章では、ヘテロクロマチン由来転写産物における TMG 修飾とクロマチン上での局在への寄与について述べた。ヘテロクロマチンからは数種類の hncRNA が転写されるが、このうち、新規ヘテロクロマチン形成に寄与する可能性がしてきされている antisense dg RNA が TMG 修飾を受けていることをあきらかにした、さらに、antisense dg RNA は転写後ヘテロクロマチンに結合することが示されているが、Tgs1 欠損株ではこのクロマチン結合が大きく減少する事がわかった。これは TMG 修飾が hncRNA の動態制御にかかわることを示唆している。

第七章では、本学位論文で得られた結果を総括し、ヘテロクロマチンの新規形成における Tgs1 による TMG 修飾の意義と予想されるモデルおよび残された課題について述べた。第四章に示した siRNA 産生の結果から、Tgs1 と Swi6 が互いに独立した経路で機能しており、相互補完的なバックアップのようなシステムであることを示唆している。また、TMG 修飾は spliceosome の安定化および hncRNA のクロマチン結合を介して siRNA 産生に寄与しており、特に Swi6 が存在しない新規ヘテロクロマチン形成において重要な機能を果たしていると考えられる。

以上の内容は日本分子生物学会発行の査読付き学術誌である *Genes to Cells* 誌に掲載されている。本論文の結果は今まで知られていなかった TMG 修飾による RNA の機能制御を明らかにしたもので、クロマチン制御だけでなく RNA 機能に関連する分野にも新たな展開をもたらすことが期待されることから、博士（総合化学）の学位を授与される資格あるものと認める。