



# HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	A Novel Method to Investigate the Influence of H3K9-methylated Heterochromatin on Genetic Mutations [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Abdalla, Ola Mahmoud Ibrahim
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(総合化学)
Dissertation Number	甲第16137号
Issue Date	2024-09-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/93464">https://hdl.handle.net/2115/93464</a>
Rights(URL)	<a href="https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/</a>
Type	doctoral thesis
File Information	Ola_Mahmoud_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 オーラ マフムード イブラヒム アブダラ

審査担当者	主査	教授	佐田 和己
	副査	教授	高岡 晃教
	副査	教授	松本 謙一郎
	副査	教授	石森 浩一郎

## 学 位 論 文 題 名

A Novel Method to Investigate the Influence of H3K9-methylated Heterochromatin on Genetic Mutations

（遺伝子変異に対する H3K9 メチル化ヘテロクロマチンの影響を調査する新しい方法）

本論文は、統計学的手法に基づく新たな方法論の開発により、遺伝子における突然変異の導入確率が、ヒストン修飾によるクロマチン構造の変化に依存することを明らかにした内容で、7つの Chapter からなる。Chapter 1 で論文全体の要旨が簡潔にまとめられ、Chapter 2 では緒言として、研究の背景と本論文における研究の学術的重要性が記載されている。この Chapter では、遺伝子の変異導入の確率はクロマチン構造に由来すると想定されているものの、同一遺伝子に注目して、その遺伝子が存在する領域のクロマチン構造の変化による変異導入確率を変化を追跡した研究はないこと、ヒストン修飾のうち、ヘテロクロマチンの形成を促進し、ユークロマチンの形成を抑制することで、ゲノムの安定性を維持すると考えられているヒストン H3 のリジン 9 のメチル化、すなわち H3K9 メチル化に注目すること、さらに、これまでの同種研究での限界とそれを克服する手法の開発方針が示されており、本研究では、この H3K9 メチル化が分裂酵母の突然変異率に及ぼす影響を、ゆらぎアッセイとその統計解析を用いて明らかにすることを目的とすることが述べられている。Chapter 3 ではその具体的手法として、ヘテロクロマチンとユークロマチンにおける単一遺伝子の突然変異率を推定できる新手法を開発について述べている。まず、培地へのテトラサイクリンの添加により、H3K9 メチル化を制御する手法を導入することで、クロマチン構造をヘテロクロマチンからユークロマチンに変換することができることを示している。さらに、このような制御下において、RNA 塩基であるウラシル合成系の酵素の一つをコードする Ura4 遺伝子を利用し、この酵素が正常に機能すると細胞毒性を発現する代謝物を生成することで細胞を死滅させる基質（FOA: 5-fluoroorotic acid）を加えることで、ura4 遺伝子に変異が入ると、その正常な遺伝子産物が産生されず、基質を添加しても細胞毒性のある代謝物の生成がなく、細胞が生存できる系を確立させている。Chapter 4 ではこの新たな手法を分裂酵母に応用することで、培地中のテトラサイクリンの有無によって、生存する分裂酵母数に相違があることが確認され、結論として、H3K9 メチル化の状態、つまりヘテロクロマチン構造においては、ユークロマチン構造に比べ、その遺伝子の表現型変異率がより増加することが示された。このような知見はこれまでの研究では得られておらず、その学術的新規性は高い。Chapter 5 では、Chapter 4 で示された生存分裂酵母数の差についての統計学的考察を加えることで、その信頼性を確認するとともに、本手法のその他の系における応用についても考察している。Chapter 6 で論文全体の総括を記し、Chapter 7 では参考文献をまとめている。以上、本論文の内容は、新たな統計学的手法を用いることで、がん発症などにつながる遺伝子の変異がそのクロマチン構造に依存することを初めて示した内容で、遺伝子変異とクロマチン構造に関する多くの新しい知見と提案を含むことから、その学術的意義が認められ、博士（総合化学）の授与に値すると判断する。