

論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)	氏名	白井 均樹
学位授与の要件	学位規則第 4 条第①・2 項該当		
論文題目			
<p>A study on the association between DNA methylation overlapping the transcription termination sites and transcription termination (転写終結部位のDNAメチル化修飾と転写終結の関連性に関する研究)</p>			
論文審査担当者			
主 査	教 授	菊池 裕	
審査委員	教 授	荻野 肇 (両生類研究センター)	
審査委員	教 授	今村拓也	
審査委員	准教授	栗津暁紀	
審査委員	助 教	高橋治子	
〔論文審査の要旨〕			
<p>転写は、DNA の遺伝情報を基に RNA を合成する遺伝子発現過程であり、主に開始・伸長・終結の 3 つプロセスが知られている。脊椎動物における DNA メチル化は、転写のエピジェネティック制御の一つであり、プロモーターや遺伝子の gene body 領域内の DNA メチル化は、それぞれ遺伝子発現制御や転写伸長制御に機能する事が報告されている。しかし、DNA メチル化はゲノム全体に存在し、細胞状態の変化に伴いメチル化が変化する事から、その生物学的機能に関しては、未だ不明な点が多く残されている。最近の研究から、マウス DNA メチル基転移酵素 3a (<i>Dnmt3a</i>) は、主にプロモーターと転写終結部位 (TTS) を含む gene body 領域で、<i>de novo</i> メチル化に機能している事が報告された。本論文の著者は、未だ明らかにされていない TTS における DNA メチル化と転写終結の関係に着目し、マウス培養細胞のデータセットを用いたバイオインフォマティクス解析とゼブラフィッシュ変異体を用いた解析を行った。</p> <p>マウス培養細胞のデータセットを用いたバイオインフォマティクス解析では、4 種類の神経細胞 (<i>Dnmt3a</i>^{-/-} 変異体 3 種類と <i>Dnmt1</i>^{-/-} 変異体 1 種類) と 2 種類の胚性線維芽細胞 (MEF) (<i>Dnmt3a</i>^{-/-} 変異体と <i>Dnmt3b</i>^{-/-} 変異体) のデータセットを用いて解析を行った。メチロームデータとトランスクリプトームデータを用いた統合解析により、3 種類の神経細胞 (2 種類の <i>Dnmt3a</i>^{-/-} 変異体と 1 種類の <i>Dnmt1</i>^{-/-} 変異体) では、低メチル化 TTS の下流において、リードカウントが増加していることが明らかになった。そのうち、<i>Dnmt3a</i>^{-/-} 成熟嗅覚神経細胞と <i>Dnmt3a</i>^{-/-} アグーチ関連ペプチド産生神経細胞では TTS 下流のキメラ転写物が増加しており、これら 2 種変異体の特定遺伝子座では、TTS の低メチル化により、リードスルーが生じている事が示唆された。逆に、<i>Dnmt3a</i>^{-/-} MEF では、低メチル化 TTS の下流でリード数の減少が検出された。以上の結果は、TTS の低メチル化が、<i>Dnmt</i> や細胞種に依存して、転写終結を正負に制御する可能性がある事を示唆している。</p>			

更に著者は、ゼブラフィッシュを実験系として用い、DNAメチル化と転写終結の関連性の検討を行った。母性胚性 *dnmt3aa* 欠損ゼブラフィッシュ変異体 (MZ*dnmt3aa*^{-/-}) を作製し、独自に Whole Genome Bisulfite sequencing (WGBS) と RNA-sequencing (RNA-seq) を実施した。その結果、WGBS と RNA-seq の統合データ解析により、TTS に重なるメチル化低下領域を同定した。更に、MZ*dnmt3aa*^{-/-} 変異体を用いた遺伝子発現解析を行った結果、3つの遺伝子の低メチル化 TTS の下流において、遺伝子発現が増加しているおり、そのうちの1つの遺伝子では、キメラ転写産物が検出できた。マウス細胞のデータセットを用いたバイオインフォマティクス解析結果と同様に、MZ*dnmt3aa*^{-/-} 変異体の低メチル化 TTS においても、転写終結異常がある可能性が示唆された。

以上本論文は、Dnmt 欠損に起因する低メチル化 TTS を有する特定遺伝子座において、転写終結異常を同定した最初の研究である。本研究結果は、転写終結部位における DNAメチル化の新たな機能を示唆するものである事から高く評価できる。審査の結果、本論文の著者は博士（理学）の学位を授与される十分な資格があるものと認める。

公表論文

- (1) Shirai, M., Nara, T., Takahashi, H., Takayama, K., Chen, Y., Hirose, Y., Fujii, M., Awazu, A., Shimoda, N., and Kikuchi, Y. (2022).

Identification of aberrant transcription termination at specific gene loci with DNA hypomethylated transcription termination sites caused by DNA methyltransferase deficiency.
Genes & Genetic Systems in press.

参考論文

- (1) Shirai, M., Takayama, K., Takahashi, H., Hirose, Y., Fujii, M., Awazu, A., Shimoda, N., and **Kikuchi, Y.*** (2022).

Methylome data derived from maternal-zygotic *DNA methyltransferase 3aa*^{-/-} zebrafish.
Data in Brief **44**, 108514.