

## 審査の結果の要旨

氏名 長谷川 優子

本研究は哺乳類雌において見られるエピジェネティックな遺伝子発現制御である X 染色体不活性化の必須因子 Xist RNA の局在制御機構の解明を行い、RNA 結合タンパク質である hnRNP U を局在制御因子として同定したとともに、長鎖 non-coding RNA (ncRNA) が関与するエピジェネティックな遺伝子発現制御機構の共通性を示唆するものである。近年、トランスクリプトーム解析により大量の ncRNA の存在が明らかにされたが、それらの担う機能については未解明な部分が多く、精力的な解析が進められている段階にある。本研究の解析対象となった Xist RNA は機能が既知の数少ない長鎖 ncRNA のひとつである。この長鎖 ncRNA の最大の特徴として、mRNA 様の特徴を持つにも関わらず、細胞質へと輸送されることなく核内に留まり、X 染色体に局在化する点が挙げられる。提出者は、この局在化を支える分子機構の解明を目的として研究を行った。

まず第一章では、局在制御因子の探索を行っている。提出者は Xist RNA 局在化制御に RNA 結合タンパク質が関与しているのではないかと考え、siRNA により 176 種類の RNA 結合タンパク質を発現抑制した際に、Xist RNA の局在に影響を及ぼす因子を探索した。その結果として核内に豊富に存在する hnRNP 群に属する hnRNP U を局在制御因子として見出した。その他の hnRNP 群に関しては Xist RNA 局在制御に関与しないことも明らかにしており、hnRNP U が Xist RNA 局在制御を担う特異的な因子であることを主張している。

第二章では、Xist RNA 局在の異常が X 染色体不活性化に及ぼす影響についての検討を行っている。分化誘導により *in vitro* で X 染色体不活性化を再現できる系である ES 細胞を用いて、hnRNP U の減少が X 染色体不活性化を阻害するか検証した。結果として、不活性化 X 染色体マーカーである H3K27me3 の蓄積阻害と、転写抑制の阻害が観察されたことから、Xist RNA の局在化ならびに hnRNP U が X 染色体不活性化に必須であることを結論づけている。

第三章では、hnRNP U による Xist RNA 局在制御機構の詳細を明らかにするべく、hnRNP U のドメイン解析を行っている。hnRNP U には DNA 結合ドメイン、RNA 結合ドメイン、機能未知である SPRY ドメインが存在する。提出者は各ドメイン欠損型の hnRNP U を作製し、どのドメインが Xist RNA 局在制御に必要なかを調べた。その結果として、DNA 結合ドメインと RNA 結合ドメインの両方が Xist RNA 局在制御に必要なことを見出した。また、同様の

各ドメイン欠損型 hnRNP U を用いて免疫沈降実験を行い、RNA 結合ドメインが Xist RNA との相互作用に必要であることも見出した。さらに Xist RNA の hnRNP U 結合サイトの候補領域も示しており、この領域が既知の Xist RNA 局在制御領域の付近であったため、hnRNP U 結合サイトが Xist RNA 局在制御領域の実体であることを主張している。また、hnRNP U と類似した RNA 結合ドメインを持つ他のタンパク質が G カルテット構造を認識することから、Xist RNA 局在制御と G カルテット構造の関連を推察し、実際に関連性を示唆する結果を得ている。

第四章では、Xist RNA 様の機能・性質を持つ長鎖 ncRNA である Airn や kcnq1ot1 が Xist RNA と同じく hnRNP U による制御を受けるか検討を行っている。結果として、これらの Xist RNA 様の長鎖 ncRNA が hnRNP U による局在制御を受けることを見出した。また、これら長鎖 ncRNA の担う機能である周辺遺伝子の転写抑制（ゲノムインプリンティング）に対する影響も検討し、hnRNP U ノックダウンにより転写抑制が阻害されることを示唆する結果を得た。一方で、長鎖 ncRNA による転写抑制を受けない側の染色体については、逆に転写が減少する影響を観察しており、長鎖 ncRNA による片側染色体の転写抑制だけでなく、もう一方の染色体の活性化状態を保つ機構にも hnRNP U が関与している可能性を論じている。

最終的な考察としては、提出者が見出した hnRNP U が長鎖 ncRNA 制御因子である理由について、各ドメインの特徴や相互作用因子の存在から論じている。また、長鎖 ncRNA によるエピジェネティックな遺伝子発現制御機構を支える分子機構の共通性や、進化の過程で生物がいつそれを獲得したのかについて考察している。

以上の研究成果は、論文提出者が主体となって行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。