

## 審査の結果の要旨

氏名 岡部 篤史

本論文は、p53 結合領域におけるクロマチンダイナミクスを全ゲノムで解析することにより、転写制御に関与する p53 結合領域を同定し、特に遺伝子から離れた p53 結合領域における変化を統合的に解析した論文である。

p53 は癌抑制遺伝子の一つとして知られる転写制御因子で、DNA 修復や細胞周期停止、アポトーシスなどの機構を制御することによってゲノム上に損傷が蓄積することを防いでいる。近年の次世代シーケンサーの発展に伴い、全ゲノムでの p53 結合領域について研究されてきているが、遺伝子から離れた領域に結合する p53 の転写制御における役割は十分にわかっていない。p53 は特に半数以上の悪性腫瘍で変異が認められることが知られており、p53 結合領域の機能を知ることが、癌の発症原因を知るためだけでなく、癌の治療に応用するためにも意義のある研究である。

本論文では、p53 結合領域をヒストン H3K4 のメチル化状態によって分類することにより、遺伝子の転写開始点近傍で機能する領域（プロモーター領域）と、遺伝子から離れた領域から転写を活性化させる領域（エンハンサー領域）を分類することができた。更に、H3K27 のアセチル化状態の変化によって分類することで、H3K27ac が上昇する領域が転写制御領域として活性化していることを示し、転写制御に関わる p53 結合プロモーター領域と p53 結合エンハンサー領域を同定している。

p53 結合領域を全ゲノムで解析した研究は既に報告されているが、ヒストン修飾状態によって分類することで、各 p53 結合領域の機能を予測した報告は未だ成されていない。また、他の転写因子についても全ゲノムでの結合領域についての解析が進められているが、全ての結合領域が転写制御において機能しているかどうかは十分にわかっていない。本論文では、ヒストン H3K27 のアセチル化状態の変化を観察することにより、転写制御に関わる領域のみを同定できており、今後のゲノムワイドな転写研究において、クロマチン修飾を併せて解析することが有意義であることを示したものである。

さらに本論文では、転写に関わる p53 結合領域の近傍遺伝子の発現変化を解

析することにより、209 個の遺伝子を 5-FU 刺激によって活性化する p53 標的遺伝子として同定している。このうち、158 個は p53 結合エンハンサー領域の標的と考えられる。また、そのうち 129 個は転写開始点において p53 の結合が認められなかったことから、今までの解析では p53 の標的として同定するのが困難であった遺伝子である。実際に 79 個は新規の p53 標的遺伝子であり、p53 結合エンハンサー領域に注目した今回の解析によって、既知の方法では同定できなかった標的遺伝子を同定できたと考えられる。

また、本論文では、ChIA-PET (Chromatin interaction analysis using Paired-End Tag sequence) 法を用いることで p53 を介したクロマチン相互作用を網羅的に解析し、一部の領域では 3C (Chromatin Conformation Capture) 法による相互作用の確認を行い、エンハンサー領域におけるクロマチンダイナミクスに迫っている。標的遺伝子と相互作用している p53 結合エンハンサー領域を 93 個同定し、p53 結合エンハンサー領域において p53 依存的な H3K27 のアセチル化と RNA ポリメラーゼ II の結合が起きていることを示した。この解析により、ChIP-seq 法によって同定を行った標的遺伝子が実際に p53 結合エンハンサー領域と相互作用していることを示しており、ChIP-seq 法による標的遺伝子の同定法が確かな方法であることを示すと共に、p53 結合エンハンサー領域がループ構造をとることで標的を制御していることを示している。

ChIA-PET 法はクロマチン相互作用を網羅的に検出する新しい手法であり、ER  $\alpha$  や RNA ポリメラーゼ II、CTCF など一部のタンパク質を介した相互作用が報告されているが、p53 による相互作用を解析した報告は本論文が初めてである。検出感度に改良の余地はあるものの、ChIA-PET 法を成功させ、p53 結合領域における相互作用を検出したことは p53 による転写制御機構を知る上でも大きな成果であると考えられる。

以上のように、本論文は、p53 結合領域におけるヒストン修飾状態とクロマチン相互作用をゲノムワイドに解析することにより、転写制御に関わる p53 結合領域 3729 か所と、その標的遺伝子 209 個を同定すると共に、p53 結合エンハンサー領域がループ構造を取ることで近傍遺伝子の発現を制御していることを示すことに成功している。

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。