

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	
Title(English)	The molecular mechanism of mating-type switching of Schizosaccharomyces pombe -Euchromatin factors are involved in donor selection during gene conversion-
著者(和文)	EsquivelC ALFREDO
Author(English)	Alfredo Esquivel.C
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12171号, 授与年月日:2022年9月22日, 学位の種別:課程博士, 審査員:岩崎 博史,木村 宏,田口 英樹,立花 和則,中戸川 仁
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12171号, Conferred date:2022/9/22, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

## 論文審査の要旨及び審査員

(2000字程度)

報告番号	乙 第 号	学位申請者	Alfredo Esquivel-Chávez	
	氏 名	職 名	氏 名	職 名
論文審査員	主査 岩崎 博史	教授	中戸川 仁	准教授
	木村 宏	教授		
	田口 英樹	教授		
	立花 和則	准教授		

本論文は「The molecular mechanism of mating-type switching of *Schizosaccharomyces pombe* -Euchromatin factors are involved in donor selection during gene conversion-」と題し、英文で記述され、6章より構成されている。

第一章「Introduction」では、分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* の生活環と2つの接合型 (P型とM型)、接合型変換のパターンや様式、接合型決定遺伝子座である *mat* 座の遺伝子構造とヘテロクロマチンとの関係、及び、これまでに提唱されている *S. pombe* の接合型変換の分子機構について概説している。特に、接合型変換の分子機構は、*mat* 座において、*mat1* がドナーカセット (*mat2* もしくは *mat3* 遺伝子座) との遺伝子変換によって引き起こされること、また、これは細胞のもつ相同組換え機構を利用し、プログラムされたDNAの二重鎖切断が引き金になることを強調している。そのうえで、接合型を正常に変換するためには、ドナーカセットが適切に選択されること (ドナー選択) が重要であるが、その分子機構は未解明な点が多いことを指摘し、これに迫ることを本研究の目的とすると述べている。

第二章から第四章までは本研究で得られた結果について述べている。

第二章「Identification of the *shf1* gene as a novel gene involved in MTS」では、接合型変換に関与する未知の遺伝子を分離すべく、本研究で実施したミュータントのスクリーニング系の詳細や、その結果得られた *shf1* 変異の特徴について述べている。まず、スクリーニングの方法については、Bioneer社の遺伝子欠失株ライブラリーはヘテロタリックな *h<sup>+</sup>* 株を用いていることから、これをホモタリックな *h<sup>90</sup>* 遺伝子背景にする方法や、接合型変換のアッセイ法としてのマルチプレックスPCRとヨウ素染色法について述べ、入手可能なすべての非必須遺伝子の欠失株に対して網羅的にスクリーニングした結果が記載されている。得られた候補遺伝子のうち、本研究では特に *shf1* 遺伝子に注目し、これ以降詳細に解析している。*shf1* 遺伝子産物は、Brl1、Brl2及びRad6蛋白質と結合してHULC (histone H2B ubiquitin ligase complex) を形成し、ヒストンH2Bの119番目のリジンをユビキチン化する。このヒストンH2Bのユビキチン化 (H2Bub) は、ユークロマチンの特徴である。そこで、他のHULCサブユニットの欠損変異やユビキチン化されないH2B変異でも *shf1* 欠損と同様な接合型欠損を引き起こすかどうか解析し、その結果をもとに、HULC複合体が正常な接合型変換の過程に必要であると結論づけている。一方、Rad6蛋白質はRad18蛋白質と複合体を形成しDNA損傷耐性に関与することが知られているが、*rad18* 欠損は接合型変換の異常は観察されないことを示し、Rad6蛋白質を含む2種類の複合体のうち、HULC複合体が特異的に接合型変換に関与すると述べている。

第三章「HULC is involved in donor selection of the mating-type switching」では、接合型変換におけるHULCの分子機構を解析した結果を述べている。まず、HULC変異株において、接合型変換の初期反応である *mat1* 近傍のDNA二重鎖切断に異常が検出されないが、次のステップであるドナー選択に異常をきたすことを述べている。ドナー選択には、2つのシスの組換えエンハンサー配列 *SRE2* と *SRE3* がそれぞれ *mat2* と *mat3* 近傍に位置し、それぞれのドナーカセットの使用の促進に関与することが知られているが、HULCは *SRE3* (すなわち、*mat3*) の利用に関係する証拠を示している。さらに、HULCによるH2Bのユビキチン化はSet1CによるヒストンH3の4番目のリジンのメチル化に必須で、これらのヒストン修飾は転写活性の活発なユークロマチンの特徴であるが、この修飾もドナー選択に重要な役割を果たしている証拠を提出している。また、ヘテロクロマチン蛋白質HP1の分裂酵母ホモログSwi6の *SRE2* と *SRE3* の局在はHULC変異やSet1C変異によってM細胞特異的に減少することを報告している。一方、*mat* 座のヘテロクロマチン形成には、2つの経路が機能している。一つはRNAi依存的経路で、もう一つは転写因子Atf1-Pcr1複合体に依存するRNAi非依存的経路である。そこで、エピスタシス解析を行い、Set1CとAtf1-Pcr1複合体が同じ経路で *mat* 領域のヘテロクロマチン形成とドナー選択に関与し、RNAi依存的ヘテロクロマチン形成経路とは平行して機能する証拠を提出している。

第四章「Comparison between other chromatin-related factors」では、上記以外で、クロマチン構造に影響を及ぼすことが知られているPaf1C (RNAポリメラーゼII付随因子1) 及びEpe1 (Enhancement of position

effect 1)について解析し、これらの欠損では接合型変換の異常が見られないと述べている。

第五章「Discussion」では、上記の実験結果を総括して、接合型特異的なドナー選択のモデルを議論している。そして、M細胞特異的にHULCやSet1CがSRE3領域においてクロマチンの構造変化を誘導してmat3カセットの利用を抑制することで結果的にmat2が選択され、一方、P細胞ではこの抑制がないのでmat3カセットが選択されるという、細胞型特異的ドナーカセット選択モデルを提唱している。

第六章「Materials and Methods」では、本研究で用いた実験材料と実験手法の詳細を述べている。

以上を要するに、本論文は*S. pombe*の接合型変換の分子機構においてヘテロクロマチンが決定的な役割を果たすドナー選択のメカニズムにおいて、ユークロマチン因子であるHULCとSet1C複合体が関与することを新たに見出したものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。