

Title	Matrin3 binds directly to intronic pyrimidine-rich sequences and controls alternative splicing
Author(s)	植村, 有里
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/69251
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

論文内容の要旨

氏 名 （植村 有里）	
論文題名	Matrin3 binds directly to intronic pyrimidine-rich sequences and controls alternative splicing (Matrin3はイントロン内のピリミジンが豊富な領域に直接結合し、選択的スプライシングを制御する)
論文内容の要旨	
<p>Matrin3 is an RNA binding protein that is localized in the nuclear matrix and causative mutations in the <i>Matrin3</i> gene have been recently identified in the patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS). Therefore, it is pivotal to clarify the target RNAs and the function of Matrin3, especially in neuronal cells, as a first step to elucidate the disease mechanism. However, although various roles in RNA metabolism have been reported for Matrin3, in vivo target RNAs to which Matrin3 binds directly have not been investigated comprehensively so far. Here, I show that Matrin3 binds predominantly to intronic regions of pre-mRNAs. Photoactivatable-Ribonucleoside-Enhanced Crosslinking and Immunoprecipitation (PAR-CLIP) analysis using human neuronal cells revealed that Matrin3 recognized pyrimidine-rich sequences as binding motifs, including the polypyrimidine tract, a splicing-regulatory element. I further validated that Matrin3 bound directly to RNAs with pyrimidine-rich sequences by in vitro binding assay. Splicing-sensitive microarray analysis combined with PAR-CLIP data demonstrated that depletion of Matrin3 preferentially increased the inclusion of cassette exons that were adjacent to introns that contained Matrin3-binding sites. Given that a part of Matrin3 proteins are known to bind to polypyrimidine tract binding protein 1 (PTBP1), one of the splicing regulators that bind to polypyrimidine tract, I further performed PAR-CLIP analysis against PTBP1 to examine the overlapping of the binding sites between Matrin3 and PTBP1. Then, I found that although most of the genes targeted by PTBP1 were also bound by Matrin3, Matrin3 could control alternative splicing in a PTBP1-independent manner, at least in part. These findings suggest that Matrin3 is a splicing regulator that targets intronic pyrimidine-rich sequences.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (植村 有里)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	仲 野 徹
	副 査	教授	高 島 成 二
	副 査	教授	平 岡 泰
	副 査	教授	河 原 行 郎
論文審査の結果の要旨			
<p>本研究では、機能が未知のDNA/RNA結合タンパク質であるMatrin3について、RNA結合能に着目してその標的RNAの同定と機能解析を行った。まず培養細胞を用いて、PAR-CLIP(Photoactivatable-Ribonucleoside-Enhanced Crosslinking and Immunoprecipitation)法により、Matrin3の生体内での標的RNAを一塩基解像度で同定し、Matrin3がpre-mRNAのイントロンに結合することを明らかにした。また、配列情報のモチーフ解析をおこない、結合モチーフにピリミジンが豊富なこと、また、<i>in vitro</i> においてそのモチーフを持つRNAに直接結合すること、を示した。さらに、生体内でピリミジンが豊富なポリピリミジントラクトに濃縮されたことから、Matrin3がスプライシングに関与する可能性を考え、マイクロアレイを用いてスプライシングパターンを解析した結果、Matrin3がスプライシング制御に働くことを明らかにした。</p> <p>以上の結果は、Matrin3が細胞内でスプライシングを制御することを明瞭に示している。Matrin3は、RNA代謝の異常とその病態に関連のある筋萎縮性側索硬化症(ALS)の患者で点変異が見つかっていることから、本研究によりMatrin3の機能が明らかになったことで、ALSの病態解明の第一歩となることが期待される。このように、Matrin3の生体内での機能解析としては十分な研究成果であり、学位授与にふさわしいと考える。</p>			