

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 志 賀 康 幸

挿入因子ISは、転移DNA組み換え反応により原核生物ゲノムの再編成を促す可動性遺伝因子である。挿入因子IS1 (768 bp) は、両端に逆向き反復配列 (IR) を、内部に自身の転移を司るトランスポゼースをコードする遺伝子を持つ。トランスポゼースを効率良く産生するような変異体IS1は高頻度で分子間転移するが、この変異体IS1を運ぶプラスミドからは、IS1の分子内転移反応による欠失を有するミニプラスミドと共に、両IRの間に5-9bpの介在配列を挟み込んだ形の環状IS1分子が生じる。これまでにいくつかの可動性遺伝因子の転移に様々な宿主因子が関わっていることが明らかにされているが、IS1の転移に関する宿主因子は不明であった。本研究は、IS1の転移反応における環状IS1分子の役割と、IS1の転移に必要な宿主因子を検索した結果同定されたH-NSの役割を明らかにすることを目的に行ったものである。

第1章で研究の背景を概説した後、第2章ではIS1の転移における環状IS1分子の役割について述べている。まず、通常の5-9bpの介在配列を有する環状IS1分子は通常のIS1より非常に高い頻度で標的プラスミドに単純挿入するという結果から、環状IS1分子がトランスポゼースの作用により容易に切断されることによって効率良く転移すると推測した。実際、IS1のトランスポゼースの存在下で、DNA鎖切断により引き起こされる大腸菌のSOS応答の誘導の程度が環状IS1分子を運ぶプラスミドの保持菌の方が通常のIS1を運ぶプラスミドの保持菌よりも高いことから、上記の推測が正しいことを確認した。この結果と、環状IS1分子の形成にはIS1の両方のIRの末端配列が重要であるという結果から、環状IS1分子がIS1転移の中間体として機能すると結論した。

第3章では、IS1の転移における宿主因子H-NSの役割とIS1の転移に必要なH-NSの機能ドメインの解析について述べている。まず、種々のヒストン様蛋白質の欠損株にIS1を運ぶプラスミドを導入することによって、HU、IHF、FIS、StpAの欠損株ではミニプラスミドを生成するが、H-NS欠損株では生成しないこと示した。次に、H-NS欠損株に *hns* 遺伝子を運ぶプラスミドを導入し、ミニプラスミドが生成することを示すことによって、IS1の分子内転移にH-NSが必須であることを明らかにした。

また、H-NS欠損株中では、通常のIS1は分子間で転移せずトランスポゼースによるSOS応答も誘導しないが、環状IS1分子は転移しトランスポゼースによるSOS応答を誘導することを示すことによって、IS1の転移反応には、両末端のIRにそれぞれ結合したトランスポゼース同士の会合によって両IRが空間的に近接した複合体を形成することが必要であり、H-NSはその複合体の形成に必須の因子として機能す

るが、環状IS1分子は元々両IRが近接した構造をとっていて活性のあるIR-トランスポゼース複合体を形成し易いため必須の因子として機能する必要はないと結論した。

一方、H-NSはIS1内のIR領域には結合しないこと、また、精製したIS1のトランスポゼースはIR領域に結合し複合体を形成するが、H-NSの存在下でその形成能が強化されることを示し、H-NSがIS1のIRに直接結合するのではなく、トランスポゼースと相互作用し機能することを示唆した。H-NSは種々の遺伝子の転写抑制に働くN末部分、ダイマー／マルチマー形成に働く中央部分、DNA結合に働くC末部分の3つの機能ドメインから成るが、中央部に変異をもつ場合にのみミニプラスミドを生成しないことを示すことによって、IS1の転移にH-NSのダイマー／マルチマー形成能が必要であり、トランスポゼースと相互作用し機能するという上記の示唆を確認した。

以上、本論文は、挿入因子IS1の転移反応における環状IS1分子の転移中間体としての役割を明らかにすると共に、IS1の転移に必要な宿主因子としてH-NSを同定し、そのIS1の転移における役割を明らかにしたもので、学術上寄与することが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。