

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 明 賀 史 純

可動性遺伝因子は、様々な生物種に存在し、ゲノムの多様化をもたらす因子である。トウモロコシのDNA型可動性遺伝因子 *Mu* の自律性因子 *MuDR* (4942bp) は、両端に約 210bp の逆向き配列 (TIR) を持ち、転移に際して 9bp の標的配列を重複する。*MuDR* は、二つの遺伝子 *mudrA* と *mudrB* を持ち、それぞれ、自身の TIR へ結合することからトランスポゼースと考えられる MURA と機能不明のタンパク質 MURB をコードする。*Mu* の転移機構の解析は植物の他の可動性遺伝因子に較べて遅れており、また、トウモロコシ以外のほとんどの植物で *Mu* 様因子は同定されてはいない。本研究は、シロイヌナズナとイネゲノムに多様な *Mu* 様因子が存在することを示し、それらのいくつかがトランスポゼース遺伝子を発現している転移可能な自律性因子である可能性を示したものである。さらに、シロイヌナズナの *Mu* 様因子の 1 つに挿入していた配列が、シロイヌナズナゲノムに多コピーで散在するレトロポゾン SINE であることを明らかにした。

第 1 章で研究の背景を概説した後、第 2 章ではシロイヌナズナの *Mu* 様トランスポゾンの同定と構造解析の結果について述べている。*MuDR* の *mudrA* 配列を query として相同性検索を行い、ゲノム上に 142 個の *Mu* 様因子 (*AtMu* と命名) を見い出し、*mudrA* に相当する *AtMu* の遺伝子 (*tnpA* と命名) の相同性から、これらが因子長の異なる 3 つのグループに分類されることを示した。1 つのグループに存在した 150~300bp の完全な逆向き配列 (TIR) を持つメンバーを除けば、全て不完全な TIR を持つものであるが、これらの配列の両端に 9bp の標的配列が重複していることを明らかにした。

また、*tnpA* の発現が、野生型の植物体中では抑制されているが、その抑制が培養細胞に於いて、あるいは DNA 脱メチル化により解除されることを明らかにすることによって、*AtMu* が転移可能であることを示した。また、転写産物の解析から、各グループの *AtMu* の *tnpA* 遺伝子において特異的なエキソンとインtron が存在することを明らかにした。

さらに、末端に不完全な TIR しか持たないメンバーには、*tnpA* 遺伝子とは逆向きの遺伝子 (*tnpB* と命名) が存在し、発現していることを示した。推定される TNPB タンパク質は、各グループのメンバー間で高い相同性があるが、トウモロコシの MURB より大きく相同性も存在しなかったことから、植物種で独自に進化したと推測した。

第 3 章では、イネに存在する *Mu* 様因子 *Tnr2* の解析について述べている。イネの可動性遺伝因子 *dTnr2* は、56bp の末端逆向き配列を持ち、転移により 9bp の標的配列を重複する。その大きさ

(147bp) から非自律性因子と思われたが、実際、*dTnr2*のメンバーに*mudrA*の一部配列と有意な相同性を持つ自律性因子と考えられる因子 (*Tnr2*) がイネに2つ存在することを明らかにした。*Tnr2*は*AtMu*とは異なり、植物体でも培養細胞でもよく発現し、DNAメチル化による発現抑制を受けないこと、いくつかのエキソンとイントロンをもつ*tnpA*から alternative splicingにより生じたと考えられる転写物が少ないながら存在することを明らかにした。また、相同性検索によりイネゲノムに *Tnr2*ホモログがいくつか存在することを示した。

第4章では、シロイスナズナのSINEについて述べている。*AtMu*の一つのメンバーに、内部にRNAポリメラーゼIIIのプロモーター配列を、3'端にポリAを、持つSINE (*AtSN*と命名) が挿入していることを見い出した。相同性検索により、159と149bpのコンセンサス配列を持つような内部配列の異なる二つのサブファミリーが、それぞれ71個と128個存在することを明らかにした。*AtSN*の各サブファミリーメンバーには多くの塩基置換が起きていること、生態型の異なるシロイスナズナ系統にも存在していることから、*AtSN*メンバーはシロイスナズナが各生態型に分かれる前に増幅したと推測した。

以上、本論文は、シロイスナズナとイネ・ゲノムに *Mu*様可動性遺伝因子が存在する可能性を示し、これらのいくつかはトランスポゼス遺伝子を発現するような自律性因子であることを示すと共に、*Mu*様可動性遺伝因子の1つに挿入していた配列が古い時代に転移したSINEであることを明らかにしたもので、学術上、応用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。