

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 韓 昌 均

転移性遺伝因子は、自身がコードするトランスポゼースの作用により、ある部位からの他の部位へ転移可能なエレメントであり、転移に際して標的部位の数塩基対配列を重複する。転移性遺伝因子は、非相同領域における組み換えを起こすため、ゲノムの大規模な再編成に大きな役割を果たしていると考えられている。バクテリアには挿入因子 (IS) と呼ばれる多様な転移性遺伝因子が存在するが、これらは構造の類似性により、約19種類のファミリーに分けられている。植物の転移性遺伝因子にも様々な因子が存在するが、それらもいくつかの植物に特異なファミリーに分けられている。

本研究は、最近決定された種々のバクテリアのゲノムとプラスミド上のISを同定することによって、ISによるゲノムの可塑性を明らかにすることを目的としたものである。また、本研究中で見出した特異な構造を持つ新規IS679因子が転移可能であることを証明し、その転移に必須の遺伝子を明らかにする研究も行った。さらに、イネにおいて入れ子構造をとる可動性遺伝因子を見出し、挿入している各因子の構造的特徴を明らかにした。

第1章で本論文の背景を概説した後、第2章では各種バクテリアのゲノム及びプラスミド上に存在するISを見出し、それらのゲノム再編への役割を述べている。まず、大腸菌K-12株ゲノム上で見出した多数のISの内のいくつかのISに隣接する領域が欠失しており、この欠失がISによる転移組み換え反応により生じたことを明らかにした。また、最近決定された好アルカリ性細菌 *Bacillus halodurans* C-125の全ゲノムの配列を解析し、見出した16種類のISが全て新規であることを明らかにした。また、*B. halodurans*においてもいくつかのISに隣接する領域で欠失が生じていることを指摘した。

また、最近全塩基配列が決定された病原性大腸菌 (EHEC) O157:H7のゲノムとそのプラスミドに存在するISとゲノム再編への役割について述べている。O157のゲノムとプラスミド上に、新規の7個を含む20種類のISを見出した。O157のゲノムには、K-12とは異なり、入れ子構造をとるISが多いことを示した。また、プラスミドにおいては、多くのISが病原遺伝子を挟む形で存在しており、病原遺伝子がISを介してプラスミド上に導入されたと推測した。

さらに、全塩基配列が決定された病原性大腸菌 (EPEC) B171のプラスミド pB171 に新規のIS679を含む13種類のISを見出した。これらのISは、病原遺伝子が占めている領域を挟む形で存在したことから、これらがISを介してプラスミド上に導入されたと推測した。新規のIS679に関して、相同性検索によりDNAデータベースから22個のホモログ (9個の新規ISを含む) を見いだした。これらのホモログは、グラム陰性菌に広く分布するものであり、IS679と同様、3つのorfを持つことを確認したが、そ

の半数は内部に変異を持つものであることを示した。また、IS679が、実際に転移能を持ち、内部の3つのorf全てが転移に必須であることを明らかにした。

第3章で、イネの新規転移性遺伝因子の発見及び構造解析について述べている。イネの転移性遺伝因子 *dTnr1* (235 bp) は長い末端逆向き配列 TIR を持つが、その大きさから非自律的因子と考えられた。そこで、その自律性因子 *Tnr1* を同定するために、TIR にハイブリダイズするプライマーを使用し PCR を行ったところ、いろいろな大きさの DNA 断片が増幅されたが、これらは自律性因子 *Tnr1* 由来のものではなく、6個の転移性遺伝因子が *dTnr1* の異なる部位に挿入したものであることを示した。これらの内3つは既知の転移性遺伝因子とは遠縁のもの、2つは全く新規のものであり、それらの大きさから、全て非自律性因子と考えられた。もう1つの挿入配列は、特異な末端配列を持つ新規のレトロトランスポゾンであることを明らかにした。

以上、本論文は、全配列が決定された幾つかのバクテリアのゲノムとプラスミド上の IS を同定し、挿入部位配列を解析することにより、IS の多くがゲノムの再編成に深く関与すること、また、見いだされた新規 IS679 が転移能を持ち、内部の3つの遺伝子が転移に必要であることを示すと共に、イネの新規転移性遺伝因子を多数見出し、構造の特徴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。