

[別紙 2]

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 崔 先柱

いかなる生物でも、それが生き残るために獲得してきた戦略と様々な生活史は、ゲノムの中に書き込まれており、その情報を基にその生物の進化の過程を理解することができる。原核生物のゲノムでは、様々な再編成に関わる変異（欠失、挿入、逆位、等）が起こっている。そのような変異の要因の一つに、固有の長さの DNA 断片を持ち、内部に自身の転移を司るトランスポゼースをコードし、ゲノムのある部位から他の部位に転移し、様々な再編成を促す転移因子がある。近年、様々なバクテリアのゲノムの全塩基配列が決定されているが、本論文では、ゲノム上の再編成に関わる様々な変異を同定し、それらの存在様式からゲノムの進化を理解しようとしたもので、6つの章からなる。

第1章で研究の背景を述べた後、第2章では先ず各種大腸菌及び赤痢菌のゲノム再編成に関わる変異の解析結果を述べている。ゲノムの全塩基配列が分かっている大腸菌 K-12 MG1655 株の配列を基にプライマーを設計し、他の9種の大腸菌各株から抽出した全ゲノム DNA を鋳型とし、約 465 kb（染色体地図上 0 - 10 分）領域において 5 kb ずつ PCR で増幅することによって、長さ違う DNA 断片が生じることを見出した。これらの断片の塩基配列を決定することによって、挿入、欠失、置換、重複、などの多くの変異を同定し、さらに全塩基配列が決定された病原性大腸菌 0157:H7 や赤痢菌のいくつかの配列と比較することにより、多くの変異が任意の幾つかの株で共通に存在することを見出した。これらの変異の有無をバーコード化し系統樹を作成したところ、幾つかのハウスキーピング遺伝子の塩基配列に基づいて作成した系統樹とよく一致することが分かった。そこで、多種多様な他の病原性大腸菌及び赤痢菌株を調べ、これらが3つのグループからなり、さらにサブグループ（少なくとも8つ）に分れること、この分類が病原性の表現型と一致しない場合があるが、抗原型とはよく一致することを示した。また、赤痢菌 *S. flexneri* の系統は大腸菌の一つのサブグループを形成することを示し、赤痢菌が大腸菌に属することを明らかにした。

第3章では、大腸菌 K-12 MG1655 株と、最近決定された大腸菌 K-12 の他の W3110 株の全ゲノム配列とを比較し、両者の塩基配列には大きな違いは無いが、MG1655 には付加的な IS 及び prophage の挿入がそれぞれ1個、一方 W3110 には付加的な IS が 12 個存在すること、さらに2個の IS5 に挟まれた 12.6 kb の大きさの領域が縦列に反復していることを明らかにした。このことから大腸菌 K-12 ゲノムにおいては、IS による再編成が短時日（50年）に起こることが示唆された。

第4章では、大腸菌ゲノム上に生じた変異の解析中に大腸菌 ECOR28 株のゲノムで見

出された新規挿入配列 (IS621 と命名) について述べている。この配列は、長さが 1,279 bp で少なくともゲノム上の 10 ケ所に存在すること、それがコードするトランスポゼースが病原菌の繊毛の産生に関わる部位特異的組み換え酵素[pilin gene invertase (PIV)] と高い相同性を持つが、IS110/IS492 ファミリー因子のトランスポゼースとも部分的な相同性を持つことを明らかにした。興味深いことに、10 コピーの IS621 は全て散在性配列 REP (repetitive extragenic palindromic) の内部にあり、REP 内の約 15 bp の特定の配列の特定部位に挿入していることを明らかにした。IS110/IS492 ファミリーに属する因子には、IS621 と同様、ゲノム内の反復配列中の特定部位に転移するものが幾つか存在することを指摘した。

第5章では、全塩基配列が決定されている好熱・好酸性硫黄古細菌 *Sulfolobus tokodaii* のゲノム内の挿入因子によるゲノム再編について述べている。このゲノムには、17 種類の IS が合計 223 コピーで存在すること、これらの因子中の約 72% のコピーには標的配列の重複が見られないこと、また、欠失変異が生じた不完全なものが存在することを明らかにした。このことから、*S. tokodaii* は、真性細菌と同様、激しいゲノム再編成が生じている可能性が示唆された。第6章では、得られた結果全体の総括をしている。

以上、本論文は、大腸菌・赤痢菌さらには古細菌のゲノム上に様々な再編成が生じていることを示し、バクテリアの進化が大規模なゲノム再編によって促されてきたことを示唆すると共に、大腸菌・赤痢菌においては再編成に関わる変異の存在の有無の解析を通して、様々な系統の分類と関係が推定できることを示したもので、学術上・応用上貢献するところが少なくない。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。