

論文審査の結果の要旨

氏名 小島 健司

本論文は5章からなり、第1章はR1クレードに属する non-LTR レトロトランスポソンの標的配列特異性の進化、第2章は Tx サブクレードと初期分岐群の non-LTR レトロトランスポソンの標的配列特異性の進化、第3章は、レトロトランスポソン R2 の起源と進化、第4章は、新規のレトロトランスポソン Dualen の発見とそれに基づいた non-LTR レトロトランスポソンの進化に関する考察、第5章は、レトロトランスポソン SART1 の ORF2 蛋白質の翻訳機構について述べられている。

論文提出者は第1章において、non-LTR レトロトランスポソンの1グループである R1 クレードにおける標的配列特異性の進化を明らかにするために、PCR と *in silico* のクローニング手法を併用することにより、多数の新規のレトロトランスポソンの配列を得た。この中には、新規の配列特異性を有するレトロトランスポソンが含まれており、とりわけ、28S rDNA に挿入する RT と 18S rDNA に挿入する R7 の標的配列に高い類似性が認められた。

第2章では、第1章と同様の手法を用いることで初期分岐群及び Tx サブクレードにおける配列特異性の進化を明らかにした。その結果を基にした比較解析により、配列特異的なレトロトランスポソンの標的配列は、コピー数の多く、塩基配列の保存性が高い反復配列を標的とする傾向があることを示した。また、第1章と併せて、配列特異的なレトロトランスポソンを網羅的に探索する手法により多数の新規配列特異的なレトロトランスポソンを発見したことは、今後の分子生物学的、生化学的研究のための基盤情報として有意義である。

第3章では、28S rDNA 特異的なレトロトランスポソン R2 の分布と進化に関して研究を行ない、幅広い生物種から R2 を同定した。R2 の分布は4つの動物門にまたがっており、その配列特異性の起源を左右相称動物の共通祖先にまで遡ることができることを示した。これほど広範な分布を示すレトロトランスポソンの発見は初めてであり、宿主の系統進化とレトロトランスポソンの伝播との関連付けを行なった点は評価に値する。

第4章では、特殊なドメイン構造を持つレトロトランスポソンを発見し、Dualen と命名した。Dualen は2種類のエンドヌクレアーゼ、RLE と APE をコードしており、RLE を持つ初期分岐群と APE を持つ後期分岐群との中間に位置することを、ドメイン構造の解析と各ドメインの系統解析から示した。この発見は、non-LTR レトロトランスポソンの進化において重要な意義を持つと同時に、レトロエレメント全体の進化研究に大きな前進をもたらすものであると評価してよい。

第5章では、真核生物には例外的なバイシストロニック RNA である後期分岐群のレトロトランスポソンの翻訳機構を解明すべく、SART1 の ORF2 蛋白質の翻訳機構を分子生物学的に解析した。論文提出者は、蛋白質産生系に用いられるバキュロウイルスを利用することで、これまで誰も成功したことの無い ORF2 蛋白質のウエスタンブロッティングでの検出に成功した。SART1 の ORF2 蛋白質は、同様にバイシストロニック RNA を持つ LTR レトロトランスポソンやレトロウイルスとは全く異なり、ORF2 の最初の AUG から

翻訳されていることを明らかにした。更にその機構が原核生物で見られる **translational coupling** に類似していることから、真核生物における **translational coupling** によって **SART1** の **ORF2** 蛋白質が翻訳されていると結論付けた。この研究は、**non-LTR** レトロトランスポゾンのバイシストロニック **RNA** 翻訳機構の初めての解明という事実にとどまらず、真核生物と原核生物共通のバイシストロニック **RNA** 翻訳機構の存在を指し示すものであり、高く評価できる。

以上の多岐にわたる研究結果は優れたものであるが、結果に基づいた堅実な議論に加えて、より踏み込んだ普遍性を主張することができればより一層研究の価値を増すことができるのではないかという指摘もあった。

なお、本論文は藤原晴彦との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であったと判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。