

審査の結果の要旨

氏名 河合幹彦

本研究は、近縁のゲノム配列を比較するという手法でゲノム構造の変化を探ることを目的として、計4株のゲノムが解読されて公開されている *Neisseria* 属細菌のゲノム塩基配列を比較して得られた知見をまとめたものであり、下記の結果を得ている。

- 過去に詳しく調べられていなかった重複配列を解析し、塩基配列の比較やコードされる遺伝子のアミノ酸配列の特徴から、それらは纖維状バクテリオファージ（ファージ）が染色体に組み込まれたプロファージであることを明らかにし、Nf (*Neisserial filamentous phage*)と名付けた。

Nf ファージの一方の端には共通して IS110 ファミリーのトランスポゼースのホモログがあることを示した。Nf プロファージには他に組み込み酵素として働きうる遺伝子はコードされておらず、また、宿主細菌の部位特異的組換え酵素が認識するシス配列もなかった。このファージの挿入部位を比較検討した結果、ファージの末端の数塩基が保存されており、完全長のものは両端を2塩基 CT で挟まれていることがわかった。相同的な遺伝子セットを持つプラスミドや、このトランスポゼースに相同的なトランスポゼースをコードするトランスポゾンと比較検討し、このファージは末端の2塩基 CT を介して環状化と組み込みを行うと推測できた。これらのことからファージのコードするトランスポゼースがこのファージの環状ゲノムを染色体に組み込む組み込み酵素として働いたのだろうと結論した。

ゲノム上には Nf ファージが再編した形のコピーもあった。ファージのコードするトランスポゼースが行うと考えられる反応機構や逆向き反復配列がゲノム上で不安定であるという知見を組み合わせることで、これらの形成過程を推測した。

纖維状ファージと IS110 トランスポゼースは各々幅広い細菌から見つかっ

ているが、塩基配列やアミノ酸配列のデータベース検索から、この二つが組み合わさった例は *Neisseria* 属と *Neisseria* に属レベルで近縁な細菌にしか見つからないことを示した。このことから、*Neisseria* 属に近縁な細菌で両者の組み合わせが生じ、ファージが新しい染色体への組み込み機構を獲得した可能性を示唆した。

2. 4つの *Neisseria* ゲノムの比較から見いだしたゲノムの領域の並び方に違いのある複雑な構造をしているゲノム多型について、それらがどのように生成したかの過程を再構築することを試みた。

ある領域がもう一方のゲノムでは別の場所に移っているように見える多型は、IS の転移に伴う 2 回の逆位で説明できた。3 つの領域の並びが逆の順序になっている多型では、一方のゲノムにだけ、境界に同じファミリーの IS が入っていた。この多型はそれらの IS の転移に伴う 3 回の逆位で説明できた。別の多型では、隣接する 2 つの領域の並びが逆になるとともにゲノムの違う場所に移っていた。この多型は IS が転移するのに伴って切り出された中間体の環状 DNA が、ファージ同士の組み換えで別の場所に組み込まれてできたと考えられる。別の多型では、逆位の境界に一方のゲノムにだけ、株特異的な領域が入っていた。この多型は、現在では 2 か所に分断されている株特異的な領域がはじめは一つの環状 DNA をなして、それが染色体に組み込まれたあとに逆位を起こしたとして説明できた。同じ組換え点で起きた 2 種類の再編で説明できた多型もあった。*pilE/S* 遺伝子カセットが *N. meningitidis* ではゲノム上の 1 か所に集まっているのに対し、*N. gonorrhoeae* では 2 か所にあるという過去の知見は、この多型が生じる過程で起きたとして説明できることを明らかにした。

このように一見すると相同領域の断片化が進んで複雑な形に見える多型も、単純な逆位や挿入の数回の繰り返しで生じたと考えられることを示した。観察したゲノム多型には、特定の IS やバクテリオファージが関係しており、それらの活性との関わりが示唆された。

以上、本論文は *Neisseria* 属細菌のゲノム塩基配列を用いて、ゲノム比較から、バクテリオファージの新しい組み込み機構やゲノム多型の形成機構を推定した。本研究は、近縁ゲノム比較という手法の有用性を実証したと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。