

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 嵐田 亮

ファイトプラズマは植物の篩部細胞内に寄生して病気を引き起こす植物病原細菌であり、植物に萎縮・叢生・黄化・葉化等の特徴的な病害を引き起こし、大きな被害を与えている。近年 '*Candidatus Phytoplasma asteris*' OY (onion yellows) 系統の弱毒株 (OY-M) の全ゲノム配列が解読された。その結果、ファイトプラズマのゲノムには TCA 回路、酸化的リン酸回路、アミノ酸合成系などの代謝系遺伝子がほとんどコードされていないことが明らかとなった。しかし、代謝系遺伝子が少ない一方で、ファイトプラズマのゲノムには他の細菌ゲノムでは 1 コピーしか認められない *dnaB*, *dnaG*, *ssb* 等の遺伝子が複数コピー存在していた。このような重複遺伝子の役割はこれまで不明であった。本研究は、その役割を明らかにすることを目的として行われたものである。

### 1. OY-M ゲノムにおける重複遺伝子群の分布と遺伝子構造解析

OY-M ゲノムに認められる各遺伝子についてゲノムに対して相同性検索を行い、重複遺伝子を同定しゲノム内における分布を調べた。その結果、重複遺伝子は主に 4 カ所のゲノム領域に認められた。また、重複遺伝子群の遺伝子構成は約 10 ~ 20 kbp の遺伝子クラスターを形成している場合が多く、このようなクラスターはゲノム中に少なくとも 7 カ所認められた。また、遺伝子クラスターには挿入配列 IS (Insertion sequence) の転移酵素をコードする *tra5* が含まれていた。これらの結果より、重複遺伝子は遺伝子クラスターの単位で重複し、転移因子の働きによって重複遺伝子の遺伝子クラスターがゲノム内で転移している可能性が考えられた (転移性遺伝子クラスター)。

### 2. OY-W ゲノムにおける転移性遺伝子クラスターの転移の痕跡

OY 系統の強毒株 (OY-W) は、OY-M と近縁なファイトプラズマであるが、そのゲノムは OY-M のゲノム (約 860 kbp) よりも約 140 kbp 大きい。ゲノム構造の差異と転移性遺伝子クラスターとの関連を調べるため、まずサザンブロット解析を行い、*tra5* のコピー数や分布が両者で異なっていることを示した。OY-W の DNA ライブラリーを作成し *tra5* を含むクローンを探索したところ、*tra5* の下流に lipoate-protein ligase A 遺伝子 (*lplA*) がコードされた約 6 kbp のクローンが得られた。一方、OY-M ゲノムの *lplA* の上流領域には *tra5* は認められなかった。*lplA* の上流領域について両株間の塩基配列のアラインメントを行ったとこ

る、OY-W の *tra5* の下流約 350 bp 付近を境に配列の相同性が大きく変化しており、この付近で DNA の組換えが起こったことが示唆された。また OY-M ゲノム中の複数の *tra5* 下流領域についてのアラインメント解析によってもこのことが示された。以上の結果より、OY 系統のゲノム内では *tra5* を一端とした転移性遺伝子クラスターの転移が起こっていたことが示唆された。

### 3. 重複遺伝子の系統解析

OY-M ゲノム中の重複遺伝子には、保存性の高いゲノム領域にコードされているものも認められた。その周囲は、リボソームタンパク質遺伝子等のハウスキーピング遺伝子であった。そこで、本研究ではこのような保存領域にコードされた重複遺伝子を FUG (fundamental gene)、転移性遺伝子クラスター上にコードされた重複遺伝子を MUG (mobile unit gene) と定義し、FUG、MUG の 8 種類の重複遺伝子について系統解析を行った。その結果、FUG は他の細菌が持つ遺伝子のオーソログであり、MUG は転移性遺伝子クラスターがゲノム内複製したパラログであること、転移性遺伝子クラスターの重複はファイトプラズマの進化の中で比較的最近生じた出来事であること、が示唆された。

### 4. 近縁なファイトプラズマ系統間における転移性遺伝子クラスターの分布の比較

OY-M に続き、米国において AY-WB (Aster yellows witches' broom) 系統の全ゲノムが 2006 年に決定された。AY-WB と OY-M は宿主植物や媒介昆虫が異なる。両ゲノムにおける転移性遺伝子クラスターの分布およびゲノム構造の差異について解析したところ、シングルコピー遺伝子の数は AY-WB と OY-M でほぼ一致しており、重複遺伝子の数に差があることが示された。また、オーソログ遺伝子の並び順を比較したところ、並び方の保存されていない、多様性に富んだ約 300 kbp の領域が認められた。この領域は転移性遺伝子クラスターが多数存在する領域と一致しており、転移性遺伝子クラスターがゲノムの多様性を生み出す原因の一つである可能性が示唆された。

以上を要するに、ファイトプラズマゲノムにコードされる重複遺伝子群は、転移性遺伝子クラスターの形でゲノム内を転移・重複し、このことによってもたらされるゲノム可塑性が、宿主範囲などの多様性を生じさせる原因の一つである可能性が示された。ファイトプラズマの病原性の分子機構に関する知見はこれまでに非常に少なく、従って、本論文の成果は学術上また応用上きわめて価値が高い。よって審査委員一同は本論文が博士（農学）に値するものと認めた。