

論文審査の結果の要旨

氏名 二橋 美瑞子

本論文は3章からなり、第1章はカイコとトリボリウムのテロメラゼ遺伝子の同定、トリボリウムにおける新規なテロメア反復配列の発見とテロメア配列特異的 LINE の同定について、第2章はカイコテロメア配列特異的 LINE SARTBm の転移における3'UTR の必須領域の解析とその役割について、第3章は異なるテロメア配列に転移するカイコとトリボリウムのテロメア配列特異的 LINE、SARTBm と SARTTc の標的配列特異性と3'UTR の認識の比較解析について述べられている。

論文提出者は、第1章において、カイコとトリボリウムから、節足動物で初めてテロメラゼ遺伝子の同定に成功している。カイコとトリボリウムのテロメラゼ遺伝子は、テロメラゼ活性に重要な GQ モチーフを欠損していることが判明し、遺伝子構造とテロメラゼ活性の関連性が強く示唆された。また、これまで鱗翅目昆虫でしか報告されていなかったテロメア配列特異的 LINE がトリボリウム（甲虫）にも存在することを明らかにし、テロメラゼ活性の低下とテロメア配列特異的 LINE の獲得の関連性を指摘した。加えて、トリボリウムのテロメア反復配列は、節足動物一般でみられる TTAGG ではなく、TCAGG であることも明らかにした。このように、昆虫類においてテロメラゼ活性とテロメラゼ遺伝子構造の関連性や、テロメラゼ活性とテロメア配列特異的 LINE の関連性を指摘できた点、テロメア配列が変化している種が存在することを指摘できた点は、昆虫のテロメア構造の進化と多様化を考える上で重要であり、高く評価できる。

第2章では、カイコのテロメア特異的 LINE SARTBm の3'UTR の転移における役割を明らかにすることを目的に、必須領域と2次構造の解析を行った。SARTBm の3'UTR では転移に必要な領域が中央部分に存在し、その中にはステムループ構造と、テロメア配列と相互作用しうる領域が存在した。SARTBm の正確な逆転写・挿入には、3'UTR の必須領域だけでなく、3'末端領域と polyA 配列が必要であった。さらに、SARTBm の

3'UTR に外来遺伝子をつないだものに、SARTBm のタンパク質を供給すると、TTAGG テロメア配列に転移することも示した。これは、SARTBm の転移メカニズムにおける 3'UTR の役割を明らかにしたという点と、SARTBm をテロメア特異的な遺伝子導入ベクターへの応用化への道筋をつけたという点で高く評価できる。

第 3 章では、第 1 章で発見した、トリボリウムの TCAGG テロメア反復配列特異的 LINE・SARTTc とカイコの TTAGG テロメア反復配列特異的 LINE・SARTBm の、標的配列特異性及び、3'UTR の認識の比較解析を行った。SARTTc と SARTBm はそれぞれ TCAGG、TTAGG テロメア反復配列に特異性を持つ、つまり、自身の宿主のテロメア反復配列に特異性を持つことが判明した。SARTTc は、自身の宿主であるトリボリウムのテロメア反復配列の TTAGG から TCAGG への変化に対応していることが明らかとなった。さらに、SARTBm と SARTTc の標的配列特異性の違いにはエンドヌクレアーゼドメインがかかわっていることが明らかとなった。また、SARTBm のタンパク質は自身の 3'UTR のみならず、SARTTc の 3'UTR も認識できるが、SARTTc は自身の 3'UTR のみを認識していることが判明した。これは、LINE のタンパク質による 3'UTR 認識機構の進化を解析するうえで重要な知見である。

これまで、昆虫のテロメア構造の進化とテロメア特異的 LINE の転移機構は研究が遅れていたが、本論文は、昆虫においてテロメラーゼ遺伝子を初めて同定した点と、昆虫のテロメアの多様化には複数の要因が関わっていることを指摘した点、テロメア配列特異的 LINE のエンドヌクレアーゼと 3'UTR の役割を明らかにした点が高く評価される。本論文の結果から、昆虫のテロメアの進化・テロメア配列特異的 LINE の転移メカニズムの全体像が今後明らかにされることが期待される。

なお、第 1 章は小島健司氏、二橋亮氏、矢口諭氏、藤原晴彦氏との共同研究、第 2 章は高橋秀和氏、濱田光浩氏、小島健司氏、藤原晴彦氏との共同研究、第 3 章は藤原晴彦氏との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析およ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。

従って、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。