

氏 名	お ぐら けい じ 小 倉 啓 司
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 甲 第 114 号
学位授与の日付	平成 8 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科・専 攻	工芸科学研究科機能科学専攻
学 位 論 文 題 目	オナジショウジョウバエのトランスポゾン <i>ninja</i> の分子遺伝学的研究
審 査 委 員	(主査) 教 授 渡 邊 隆 夫 教 授 宗 川 吉 汪 教 授 清 原 壽 一 助教授 山 本 雅 敏

論 文 内 容 の 要 旨

トランスポソンは生物ゲノム内のいろいろな遺伝子座に転移し、その遺伝子発現に影響を与える遺伝因子である。バクテリアから高等真核生物まであらゆる生物内でトランスポソンは発見されており、その分子構造や転移の機構から幾つかのグループに分類されている。また、トランスポソンの遺伝的影響（特に突然変異誘発性）は衆知の事実になってきた。しかし、トランスポソンの分布、種内あるいはゲノム内でのコピー数の制御機構など残された問題は多い。

キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) のゲノムには中頻度反復配列 DNA が全ゲノムの約17%をしめている。この反復配列にトランスポソンは属し、これまでに30種以上が報告されている。トランスポソンの研究はこの *D. melanogaster* において最も活発に行われてきたが、その近縁種オナジショウジョウバエ (*D. simulans*) における研究例は少ない。*D. simulans* では中頻度反復配列の量が *D. melanogaster* の 7 分の 1 しかないにもかかわらず、*white* 遺伝子座の挿入による自然突然変異の割合は両種で変わらなかった。この結果は種に特有なトランスポソンが存在するのか、あるいは、*D. simulans* には *D. melanogaster* より活発に転移するトランスポソンがあってその割合が高いことが示唆された。そこで種特異的あるいは種依存性の高いトランスポソンの単離と解析には *D. simulans* が有効であると考えられた。

トランスポソンは一般的に宿主染色体のハプロイドゲノムあたり約10から80コピーがゲノム中に散在し、種内の系統間でそのコピー数にあまり差を示さない。例外として、DNA 型のトランスポソンである P (P 系統 : 40~50コピー、M 系統 : 0 コピー)、RNA 型のトランスポソンである I (I 系統 : 10~15コピー、R 系統 : 完全な因子は含まない) や *gypsy* (MS 系統 : 60~70コピー、SS 系統 : 20~30コピー) のように系統間でトランスポソンのコピー数に大きな違いを示す例はあるが、単一あるいは非常に限定された系統にだけ高いコピー数を持つ例は知られていなかった。

本論文は *D. simulans* の特定の系統にだけ高いコピー数で存在するトランスポゾン *ninja* の分子遺伝学的研究を行い、トランスポソンの起源と消長、またゲノム内分布を考える上で意義ある成果をまとめたものである。

はじめに、*D. simulans* の自然突然変異体 *white-milky* (w^{mk}) の *white* 遺伝子座に挿入する不安定な 16.1 kb の挿入配列が新しいトランスポゾン *ninja* であることを示した。28系統の *D. simulans*、6 系統の *D. melanogaster*、およびキイロショウジョウバエ種群の 6 種 (*D. mauritiana*、*D. sechellia*、*D. teissieri*、*D. yakuba*、*D. erecta*、*D. oreana*) のゲノムでサザンハイブリダイゼーション分析を行い、この

ninja が w^{mky} 系統にのみ特異的に高いコピー数の存在するトランスポゾンであることが判明した。次に、*ninja* の構造的な特徴を明らかにするために、*white* 遺伝子座に挿入配列断片をプローブとしてゲノムライブラリーから 9 個のクローンを得た。*ninja* の挿入部位の塩基配列の決定と、 λ Dsn13 の全塩基配列の決定から、*ninja* はレトロトランスポゾンであることを明らかにした。すなわち、全長 6644 bp の両端に 316 bp の LTR を持ち、挿入部位に 5-bp の標的配列の重複を持つ。2 つの ORF が存在し、レトロウイルスやレトロトランスポゾンの *gag*、*pol* に相当するドメインを含んでいた。さらに *ninja* の逆転写酵素のドメインを他のレトロトランスポゾンの逆転写酵素のドメインと比較することによって、*ninja* はカイコから発見されたトランスポゾン *pao* に近縁であることが判明した。これらの点に基づき *ninja* の構造的な特徴と進化上の問題を考察した。

最後に、 w^{mky} 由来の自然突然変異系統 w^{mky3} において、*ninja* のコピー数を調べたところ w^{mky} の他の派生系統、 w^{cho} や w^{psm1} と比べて有意に減少していることが観察された。このように系統特異的にトランスポゾンのコピー数が約 6 年という短期間のうちに減少する例は報告されていない。そこで、トランスポゾンのコピー数の制御機構を解明するためのモデルとして、コピー数の異なる系統から *ninja* の DNA をクローニングし、それらの構造を比較解析した。 w^{mky3} にのこる *ninja* 因子の 3 分の 1 は 5' 側に欠失を含んでいた。この点が最も顕著な構造的な特徴であったことから、コピー数の減少と 5' 側の欠失した因子の増加とは何らかの関係がある可能性を示唆した。

論文審査の結果の要旨

申請者は、オナジショウジョウバエから転移活性のある新しいレトロトランスポゾン、*ninja* を単離、同定した。そして、このレトロトランスポゾンが系統特異的な因子であることを示した。このような因子は前例がないため、今後、トランスポゾンの起源を解明する新しい材料になると考えられる。

また、多くの *ninja* 因子を含んでいた w^{mky} の派生系統において、そのコピー数が減少している w^{mky3} を見つけた。このコピー数の減少している系統ではその 3 分の 1 の因子が 5' 側の領域で欠失を含んでいることを報告した。これまで、このようなトランスポゾンの因子の減少の報告はなく、この研究はトランスポゾンがゲノム内に一定のコピー数を維持する機構の解明に寄与するものと思われる。

本研究の一部は申請者を筆頭著者として、Genes & Genetic Systems (1996) に印刷中であり、残りは、Genetics (1996) で改訂中である。また、関連する論文がすでに Chromosoma (1994) と Plant Science (1995) に報告済みである。