

氏 名	ふくい ともかず <b>福 井 智 一</b>
学位(専攻分野)	博 士 ( 学 術 )
学 位 記 番 号	博 甲 第 4 9 4 号
学位授与の日付	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 3 条第 3 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	<b>Current condition of P transposable elements in wild populations of Drosophila melanogaster</b> (キイロショウジョウバエ自然集団中の P 因子の現在の状態) (主査)
審 査 委 員	教授 山口政光 教授 山岡亮平 教授 森 肇

## 論文内容の要旨

申請論文は、第 1 章から第 4 章までで構成されている。第 1 章では、本論文の背景と目的が述べられている。転移遺伝因子（トランスポゾン）は、真核生物ゲノムの非常に大きな割合を占める遺伝因子として知られている。以前は真核生物の進化に直接寄与しない遺伝因子、即ちジャンク DNA のひとつと扱われる事が多かったが、近年様々な研究結果によりトランスポゾンが真核生物の進化に大きな役割を果たしている事が明らかになってきている。トランスポゾンはその自己複製により突然変異や染色体異常を引き起こす一方、ゲノムをシャッフルする事により新しい遺伝子やその調節機構の創成に寄与する事が分かってきている。これらのことから自然集団中のトランスポゾンの挙動を探る事は、真核生物の進化原理を解明する上で非常に重要な要素となってきた。キイロショウジョウバエゲノム中の P 因子は、転位因子の進化を探る上で最も普及したモデル系の一つである。申請者は P 因子が自然集団中でどのように振る舞うかを探るため、集団遺伝学（第 2 章）及び分子遺伝学（第 3 章）の手法を用い研究した。

第 2 章では、キイロショウジョウバエ P 因子の自然集団における長期的な動態を観察するため、日本の 27 地域から採集した 472 の単一雌系統の P-M システム表現型（P 因子の転移を誘導及び抑制する能力）を GD テストにより分析し、ゲノム中の P 因子の組成（P 因子のサイズ、種類、及びコピー数）をサザン解析により明らかにした。地域ごとに特色のある表現型が観察されたが、P-M システム表現型とゲノム中の P 因子の組成との間に明確な相関関係は見られず、完全型 P 因子と KP 因子による優占が全ての地域集団及び P-M システム表現型から検出された（FP+KP プレドミナンス）。過去の知見と比較することにより、それぞれの地域集団の表現型は、約 15 年の間保存されていることが明らかとなった。例を挙げると、東北地方由来の集団は P 系統（転移能力、抑制能力を共に持つ）と Q 系統（転移抑制能力のみ持つ）から構成されている状態が 1980 年代初期と 2000 年代初期の両方から観察された。類似の表現型の保存は日本の他の地域からも観察された。また、いくつかの地域では 30～40 年以上に渡り P-M システム表現型が保存されていることが明らかとなった。完全型 P 因子と KP 因子のコピー数の比をサザン解析の結果より算出したところ、P-M システム表現型との間に僅かな相関関係しか見られなかった。また、完全型 P 因子と KP 因子が自然集団中で優占している原因、及び現在自然集団中の P 因子がトランスポ

ゾンの進化においてどのような段階に達しているのかについて考察を行っている。

第3章では、以前の研究より、キイロショウジョウバエ自然集団からは P-M システム表現型と無関係に完全型及び KP 因子が多数観察される事実を受け、検出されるものの機能を示さない P 因子、即ち M' 系統（転移能力、抑制能力共に持たない）中の P 因子に注目している。小笠原諸島父島自然集団由来の M' 系統である OM5 ゲノム中の P 因子をクローニングし、塩基配列と挿入位置を決定した。20 の P 因子が同定され、その内の 1 個が完全型因子、15 個が KP 因子、4 個がその他の不完全型 P 因子であった。これら完全型 P 因子及び KP 因子は全てカノニカルな塩基配列を持ち、それらの機能に影響を与えるような突然変異は見られず、その殆どが何らかの活性が報告されている遺伝子の近傍及び内部に挿入していた。また、*in situ* ハイブリダイゼーション解析により、OM5 の唾液腺染色体上の P 因子を観察したところ、セントロメア、テロメア、第四染色体などの典型的なヘテロクロマチン領域への P 因子の凝集は見られなかった。多くの不活性な P 因子がヘテロクロマチン領域以外に挿入していたことから、自然集団中において多くの P 因子が転移及び転移抑制の活性を示さない原因として、数少ない特別な領域に挿入した P 因子のみが強い活性を示す可能性を提案している。また KP 因子が完全型 P 因子と共に集団中を優占している原因として、過去に提唱、支持されてきた KP 因子の転移抑制能力ではなく、KP 因子自身の転移効率の高さ、及び KP 因子転移後のドナー領域修復が行われる際、不完全な相同性依存の末端結合によって内部欠失が起こる可能性が低い性質によるものであるという考えを支持、提案している。

第4章では、第2章、第3章で明らかになった知見をもとに、他の種（ハマダラカ）を宿主とする P 因子、及びキイロショウジョウバエゲノム中の他の DNA 型トランスポゾン(hobo)との比較考察を行った。ハマダラカ P 因子との比較から、キイロショウジョウバエ P 因子の進化段階について考察している。また、hobo 因子との比較により DNA 型トランスポゾンの共通した特性及び P 因子の独自性について考察している。さらに、hobo 因子やヒト L1、Alu 因子との比較により申請者が支持、提案した FP+KP プレドミナンスの現象、原理が他のトランスポゾンにも適用される可能性について考察している。

## 論文審査の結果の要旨

転移遺伝因子（トランスポゾン）は、真核生物ゲノムの非常に大きな割合を占める遺伝因子として知られている。以前は真核生物の進化に直接寄与しない遺伝因子、即ちジャンク DNA のひとつと扱われる事が多かったが、近年様々な研究結果によりトランスポゾンが真核生物の進化に大きな役割を果たしている事が明らかになりつつある。トランスポゾンはその自己複製により突然変異や染色体異常を引き起こす一方、ゲノムをシャッフルする事により新しい遺伝子やその調節機構の創成に寄与する。これらのことから自然集団中のトランスポゾンの挙動を探る事は、真核生物の進化原理を解明する上で重要である。キイロショウジョウバエゲノム中の P 因子は、転位因子の進化を探る上で最も普及したモデル系の一つである。本論文で申請者は P 因子が自然集団中でどのように振る舞うかについて、集団遺伝学及び分子遺伝学の手法を用いて研究し、以下の事を明らかにした。

キイロショウジョウバエ P 因子の自然集団における長期的な動態を観察するため、日本の 27

地域から採集した 472 の単一雌系統の P-M システム表現型（P 因子の転移を誘導及び抑制する能力）を GD テストにより分析し、ゲノム中の P 因子の組成をサザン解析により明らかにした。地域ごとに特色のある表現型が観察されたが、P-M システム表現型とゲノム中の P 因子の組成との間に明確な相関関係は見られず、完全型 P 因子と KP 因子による優占が全ての地域集団及び P-M システム表現型から検出された（FP+KP プレドミナンス）。過去の知見と比較することにより、それぞれの地域集団の表現型は、約 15 年間保存されていることを明らかにした。

また以前の研究より、キイロショウジョウバエ自然集団からは P-M システム表現型と無関係に完全型及び KP 因子が多数観察されることから、検出されるものの機能を示さない P 因子、即ち M' 系統（転移能力、抑制能力共に持たない）中の P 因子に注目し、小笠原諸島父島自然集団由来の M' 系統である OM5 ゲノム中の P 因子をクローニングし、塩基配列と挿入位置を決定した。20 の P 因子が同定され、その内の 1 個が完全型因子、15 個が KP 因子、4 個がその他の不完全型 P 因子であった。これら完全型 P 因子及び KP 因子は全てカノニカルな塩基配列を持ち、それらの機能に影響を与えるような突然変異は見られず、その殆どが何らかの活性が報告されている遺伝子の近傍及び内部に挿入していた。また、*in situ* ハイブリダイゼーション解析により、OM5 の唾液腺染色体上の P 因子を観察したところ、セントロメア、テロメア、第四染色体などの典型的なヘテロクロマチン領域への P 因子の凝集は見られなかった。多くの不活性な P 因子がヘテロクロマチン領域以外に挿入していたことから、自然集団中において数少ない特別な領域に挿入した P 因子のみが強い活性を示す可能性を提案した。また KP 因子が完全型 P 因子と共に集団中を優占している原因として、過去に提唱、支持されてきた KP 因子の転移抑制能力ではなく、KP 因子自身の転移効率の高さ、及び KP 因子転移後のドナー領域修復が行われる際、不完全な相同性依存の末端結合によって内部欠失が起こる可能性が低い性質によるものであるという考えを支持、提案した。これらの発見は新規のものであり、高く評価できる。

学位論文は英文で丁寧に作成されており、論旨も明解であった。本論文の内容は、査読制のある国際的学会誌にすでに公表済みあるいは公表が確定している下記の 2 編の論文を基礎としている。

- 1) Itoh, M., Fukui, T., Kitamura, M., Uenoyama, T., Watada, M. and Yamaguchi, M.: Phenotypic stability of the P-M system in wild populations of *Drosophila melanogaster*. *Genes Genet. Syst.* 79: 9-18, 2004.
- 2) Fukui, T., Inoue, H., Yamaguchi, M. and Itoh, M.: Genomic P elements content of a wild M' strain of *Drosophila melanogaster* KP elements do not always function as type II repressor elements. *Genes and Genetic Systems* in press.