

氏名(本籍)	木戸敬治(広島県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第1,324号		
学位授与年月日	平成7年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第5条第1項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Molecular biological studies on amplification and evolution of tRNA-derived SINE families in salmonid genomes (サケ科魚類ゲノムに存在する tRNA 起源の散在型反復配列ファミリーの増幅と進化に関する分子生物学的研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	岡田益吉
副査	筑波大学教授	農学博士	田仲可昌
副査	筑波大学教授	理学博士	堀輝三
副査	東京工業大学教授	薬学博士	岡田典弘

論 文 の 要 旨

本論文は、サケ科魚類ゲノムに存在する short interspersed repetitive element (SINE:短い散在型反復配列) の構造とコピー増幅のプロセスについての研究を述べたものである。

著者は、ゲノム DNA の *in vitro* 転写産物をプローブとしていくつかのサケ科魚類からクローニングを行い、3種類の SINE (*Sma* I, *Fok* I, *Hpa* I ファミリー) の存在を示した。これら3ファミリーは、相互に異なる塩基配列をもっているが、いずれも RNA を介するプロセスで転移することによってコピーを増幅したと考えられる構造上の特徴を有しており、また tRNA の配列に高い類似性を示した。特に *Fok* I ファミリーは、これまでに同定された tRNA 起源と思われる SINE の中で最も高い tRNA との類似性を示している。PCR により3つのファミリーのサケ科サケ亜科魚類における系統的分布を調べたところ、各ファミリーはそれぞれ全く異なる分布を示し、したがって進化的に異なる時期に独立にそれぞれのコピーの増幅が起こったことが明らかとなった。

Hpa I ファミリーは調べたサケ科サケ亜科魚類全てに存在しており、増幅はサケ亜科の分岐が始まる前に起こったことが示唆された。増幅時期を明らかにするため、サケ亜科の放散が始まる以前に分岐したサケ科コレゴヌス亜科やチャルムス亜科のゲノムに、どのくらいの *Hpa* 配列が存在するかをドットハイブリダイゼーションによって検討した。その結果、サケ亜科魚類にハプロイドあたり数万コピーが存在するのに対し、チャルムス亜科には約1/10、コレゴヌス亜科には1/100前後の *Hpa* 配列が存在することが示唆された。コピー増幅に伴い、*Hpa* I ファミリーメンバーの配列が変化しているかどうか

を検討するため、チマルス亜科1種、コレゴヌス亜科3種のゲノムライブラリーから計18クローンを単離したところ、コンセンサス配列に対していずれも同様の置換パターンを示すサブファミリー構造が認識された。それぞれのサブファミリーの系統的分布とコピー数をPCRとドットハイブリダイゼーションによって調べた結果、*Hpa* Iファミリーは、サケ科の進化の様々な時点でサブファミリー形成を繰り返しながらコピーを増やし、ついにサケ亜科では数万コピーに達したことが明らかとなった。

審 査 の 要 旨

反復配列の存在は、高等真核生物ゲノムの顕著な特徴の一つであるため、真核生物ゲノムの構築や進化の理解のためには、反復配列の生成と進化についての研究が不可欠である。本論文はそのような立場から、SINEの増幅と進化に関する研究を行ったものである。

サケ科魚類のゲノムに存在する *Sma* I, *Fok* I, *Hpa* I ファミリーのうち、特に *Fok* I ファミリーは、tRNA との類似性が全体にわたって非常に高いものであり、多くの SINE が tRNA 起源ではないかというこれまでの示唆をほぼ疑いのないほどに支持するものである。

これまでの SINE 研究の多くが、ある特定の生物種に存在する特定のファミリーに関するものであったのに対し、本研究は、多くの近縁な生物種について系統的側面からも検討している。これにより、ある SINE ファミリーが進化のどの時点で、どのような配列変化を生じながら、どの程度増幅したのかを検討することが可能となっており、この意味でこれまでの研究を進展させ、新しい局面の発展をもたらす独創的な研究となっている。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。