

内62-27

早稲田大学大学院理工学研究科

# 博士論文概要

## 論文題目

オナジショウジョウバエ (*Drosophila simulans*)  
におけるトランスポゾンの分子遺伝学的研究

申請者

井上 喜博

Yoshihiro Inoue

物理学及び応用物理学専攻  
遺伝学研究

昭和62年12月

バクテリアから、高等植物さらには、ヒトに至るまで、広く生物のゲノムの中には、トランスポゾンと呼ばれる動く遺伝子が存在しており、それらは、ある程度で染色体上を転移することができる。これまでの遺伝学の常識とくつがえす“動く遺伝子”の存在は、マフリンツック(1952)によつてはじめて実験遺伝学的に示された。最近になって、遺伝子操作技術を用いて、トランスポゾンDNAが単離・同定されるようになり、遺伝学の新しい展開が期待されるようになった。本研究は、トランスポゾンの生物学的機能に関する遺伝学的ならびに分子生物学的研究を通じて、トランスポゾンの総合的理解をめざすものである。

本論文は、5章から構成されている。

第1章は、序論であり、本研究の目的・意義について述べている。

真核生物のトランスポゾンに関する研究は、トウモロコシではじめられたが、その後、最も詳細な遺伝学的アプローチが可能なキロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)に研究の主流が移ってきた。*D. melanogaster*のトランスポゾンについては、その構造と種類、染色体上での分布様式、さらには転移のメカニズムに関して多くの知見が蓄積してきた。そのような分子生物学的研究の進展に比べると、トランスポゾンの遺伝子発現に及ぼす影響などの遺伝学的機能あるいは自然突然変異に与える影響といった問題については、未解決の部分が多い。本研究では、この問題の解明を試み、高等生物の中でもトランスポゾンに関する知見が最も豊富な*D. melanogaster*とそれに最も近縁ながら、トランスポゾン様DNAの量が極めて少ない(Dowsett and Young 1982)という特徴をもつオナジショウジョウバエ(*D. simulans*)も研究材料として用い、以下の3つの研究を行なった。①トランスポゾンと自然突然変異との関係、②トランスポゾン挿入突然変異体とその復帰突然変異体の遺伝学的解析、③トランスポゾン挿入突然変異体の分子生物学的研究。

第2章は、トランスポゾンが*Drosophila*の自然突然変異の誘起要因として重要な役割を担っている点について述べている。最近、*D. melanogaster*から、多くの突然変異体遺伝子がクローニングされ、そのDNA構造が明らかにされてきた。とくに自然突然変異体(自然に生じた突然変異体)の平均70%から80%は、トランスポゾンDNAの挿入によつて誘起されていることがわかった。一方、*D. simulans*においては、ゲノム中に含まれるトランスポゾン様DNAの量が*D. melanogaster*の約1/10と有意に少ないことが報告されている(Dowsett and Young 1982)。このような特徴をもつ近縁2種は、トランスポゾンの量と自然突然変異の質的ならびに量的な問題と関連づける上での好材料となる。*D. simulans*の*w*遺伝子座における自然突然変異体を7種類(*w<sup>+</sup>*, *w<sup>s</sup>*, *w<sup>mk</sup>*, *w<sup>R</sup>*, *w<sup>2.4c</sup>*, *w<sup>NIG</sup>*, *w<sup>L</sup>*)収集した。それらのDNA変化を調べるために、まず基準となる野生型の*w*遺伝子DNAを*D. simulans*の遺伝子ライブラリーから単離し、その制限酵素地図を作製した。次に突然変異体の*w*遺伝子座の制限酵素地図を作製し、野生型のそれと比較した

ところ、7種類の*w*自然突然変異体のうち、5種類までが、各々異なる、たトランスポゾン様DNAの挿入による突然変異体であることが明らかになった。従来、*D. simulans*では、トランスポゾン様DNAの量が少ないことに基づき、自然突然変異体のうち、トランスポゾンの挿入によるものが占める割合は、*D. melanogaster*より低いのではないかと予測がされていた。しかし、実際にはそれに反して、*D. simulans*の自然突然変異においてもトランスポゾンが主要な働きをしていることが明らかになった。

第3章では、前章で明らかにされた非常に大きなトランスポゾン様DNAの挿入をもつ*w<sup>mk</sup>*という突然変異体の遺伝学的解析について述べている。

*D. simulans*の野生型は、赤褐色の眼としており、その眼色は、雌雄同じである。一方、*w<sup>mk</sup>*の雄の眼色は淡黄色であり、雌のそれは、より濃い橙色と呈する。これは、*w<sup>mk</sup>*において、*w*遺伝子の発現量と雌雄同一にする調節機構(遺伝子量補正機構)が正常に機能していないことによるものであると考えられる。*w<sup>mk</sup>*から各々異なる眼色を示す8種類の自然復帰突然変異体(*w<sup>apL</sup>*, *w<sup>cho</sup>*, *w<sup>03</sup>*, *w<sup>rose</sup>*, *w<sup>PSM1</sup>*, *w<sup>PSM3</sup>*, *w<sup>PSM4</sup>*, *w<sup>U4</sup>*)が得られた。*w<sup>mk</sup>*は、*D. simulans*における最初の不安定突然変異体であるが、その復帰突然変異率は、*D. melanogaster*の不安定な突然変異体のそれよりも低い。*w<sup>mk</sup>*から得られた8種類の復帰突然変異体のうち、4種類は、*w*遺伝子座における変化であることがわかった。一方、残りの4種類は、*w*遺伝子には変化がなく、*w<sup>mk</sup>*と抑圧するサプレッサー遺伝子に劣性突然変異(*su(w<sup>mk</sup>)*)がおこったものと優性突然変異(*Su(w<sup>mk</sup>)*)が生じたものであることが明らかになった。それらのサプレッサー遺伝子座は、オナジショウバエの染色体の組換え地図上で各マ90と120の位置にマップされた。*w<sup>mk</sup>*の不安定性は、生殖細胞中のみならず、体細胞中でも確認された。このように、ある不安定な突然変異体とその復帰突然変異体が遺伝学的に系統化されている例は、*D. melanogaster*にもみあたらない。したがって、*w<sup>mk</sup>*のトランスポゾン様DNAの分子生物学的研究対象としての意義は大きい。

第4章では、*w<sup>mk</sup>*に挿入しているトランスポゾンの構造およびゲノム中での分布と分子生物学的に調べた結果について述べている。さらに*w<sup>mk</sup>*とその復帰突然変異体のDNA構造と遺伝学的知見とも対比させ、*w<sup>mk</sup>*の遺伝学的特性がどのような分子機構に基づいているのかについて考察している。

最初に、*w<sup>mk</sup>*の遺伝子ライブラリーを作製し、その中から、*w<sup>mk</sup>*のトランスポゾンDNAをクローニングした。得られたDNAの構造を解析したところ、この長さ16kbのトランスポゾンDNAは、6.2kbをひとつの単位として、それが3回同方向に重複した構造をもっていることがわかった。*D. melanogaster*の多くのトランスポゾンには、両末端に同じDNA配列が存在している。しかし、このトランスポゾンには、そのような末端反復配列は見出されなかった。このような構造的特徴をもつトランスポゾンについては、今までに報告例がない。さらに強調を

れるべき点は、このトランスポゾンの系統特異性である。w<sup>ny</sup>では、た腺染色体上の25ヶ所にこのDNAの存在が確認されたが、他の軟系統では、染色体中心にごく少数のエピローが局在していることが示された。このようにトランスポゾンがある系統ばかりに特異的に多く含まれる例はいままでに報告がなく、これは、トランスポゾンの起源を考える上でも貴重な材料となるであろう。このDNAは、D. melanogasterの13種類のトランスポゾンDNAのいずれとも相同性を示さないことも確認された。したがって、このトランスポゾンは、全く新しいタイプのものであると考えられ、ninjaと命名された。

次にw<sup>ny</sup>からの復帰突然変異体において、DNAの構造変化を調べた。D. melanogasterにおいても、同一起源で2種類以上の異なる復帰突然変異体と解析した例はない。w<sup>nl</sup>という橙色の眼色を示す復帰突然変異体では、w遺伝子に挿入している16 kbのninjaの中央部分が約13 kb欠失していることがわかった。その原因として、同方向に並んだ重複配列間での相同的組み換えが考えられる。また褐色の眼色を示す復帰突然変異w<sup>cho</sup>では、ninjaの5'末端に別のトランスポゾンが新たに挿入していることが明らかになった。トランスポゾンの中にトランスポゾンが入り込むことによって、逆に遺伝子発現が促進されたことは興味深い。

w<sup>ny</sup>と他の復帰突然変異体における眼色の性差とサプレッサー遺伝子による抑圧効果の間には、相関があり、両者の発現には、共通のDNA配列が関与している可能性が遺伝学的研究から示唆されていた。w<sup>ny</sup>、w<sup>nl</sup>、w<sup>cho</sup>のDNA構造と比較した結果、ninjaの5'末端のDNA配列の重要性が強く示唆された。

トランスポゾンは、自然突然変異と誘発する“ゲノム内変異原”として重要な役割を演じていることが明らかになった。さらにここに活発なトランスポゾンが介在すれば、トランスポゾン自身の変化によって、様々な変異遺伝子を作り出すことが可能となる。その上、その突然変異を制御する別の遺伝子の変化がともなえば、ますます多様な表現型を作り出すことが可能となる。トランスポゾンは、このようにして多様な突然変異をひき起こすことにより、生物集団の遺伝的変異を高めていると考えられる。

第5章は、総論であり、以上の結果を総括してトランスポゾンの生物学的機能について考察している。本研究により、トランスポゾンの遺伝子機能を破壊するという一面だけでなく、遺伝子発現の調節機構の“modifier”として機能しうる可能性が示された。さらに本研究でみつかった新しいトランスポゾンninjaが、将来のトランスポゾン研究にどのような展望をもたらすかについて論じている。

#### 引用文献

McClintock, B., (1952) *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 16; 13.

Dowsett, A. P. and M. W. Young, (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79; 4570-4574.