

氏 名 まつ 松 おか 岡 よし 由 ひろ 浩
 学位(専攻分野) 博 士 (農 学)
 学 位 記 番 号 論 農 博 第 2204 号
 学位授与の日付 平 成 10 年 11 月 24 日
 学位授与の要件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
 学 位 論 文 題 目 EVOLUTIONARY STUDIES ON TY1-COPIA GROUP
 RETROTRANSPOSONS IN WHEAT AND ITS RELATIVES
 (コムギとその近縁種における TY-1COPIA GROUP
 RETROTRANSPOSON の進化的研究)

(主査)

論文調査委員 教 授 遠 藤 隆 教 授 古 澤 巖 教 授 大 西 近 江

論 文 内 容 の 要 旨

レトロトランスポゾンとは、RNA中間体を経て増殖するトランスポゾン的一种である。Ty1-copia group retrotransposon (以下コピア型レトロトランスポゾン) は、植物で最もよく研究されているもののひとつであり、通常、植物のゲノムあたり数百から数万コピー存在する。本研究の目的は、コムギのコピア型レトロトランスポゾンのファミリー構造を調べ、それらの進化的特徴を明らかにすることである。

コムギゲノム内の多数のコピア型レトロトランスポゾンを探るため、逆転写酵素(以下RT)領域の一部をHirochikaら(1992)の方法によりPCR法で増幅し、その産物のクローニングを行い、塩基配列を解析した。本研究では、パンコムギ(*Triticum aestivum*)とその直接の祖先2倍種、*T. urartu*, *Aegilops speltoides*, *Ae. squarrosa*, から97のRTクローンを得、すでに報告されていた3つの配列とあわせて総計100のコムギ由来のRTクローンを解析した。そして、これらクローンの塩基配列の相同性をもとにコムギのコピア型レトロトランスポゾンのファミリー構造を解析した。さらに、これらクローンをプローブとしたサザンハイブリダイゼーション、及び塩基置換パターンの解析によりその進化的特徴を調べた。主な結果は、次の3点に要約される。

1. 100のRTクローンの塩基配列を用いて、近隣結合法により系統樹を作成した結果、コムギには、少なくとも7つのコピア型レトロトランスポゾンファミリー(family 1~7)が存在することが明らかとなった。これらのファミリーは、全てパンコムギの祖先2倍種に共通に存在する。さらに、既に他の研究者により記載されていたfamily 6を除く全ファミリーのそれぞれから選ばれたクローンをプローブとして、イネ科植物11種を用いてサザンハイブリダイゼーションを行った。その結果、パンコムギと同じイチゴツナギ亜科に属する植物に加えて、パンコムギとは異なる亜科に属する種にも分布するコピア型レトロトランスポゾンファミリー(family 1と2, 広分布域型と命名)とイチゴツナギ亜科にのみ分布するコピア型レトロトランスポゾンファミリー(family 3, 4, 5, 7, 狭分布域型と命名)が存在することが分かった。広分布域型ファミリーはイネ科植物の亜科が分化する以前(6,000万年前)に形成された古いファミリーであり、狭分布域型ファミリーはイネ科の亜科の分化の後にイチゴツナギ亜科の祖先種で形成された比較的新しいファミリーであると考えられる。

2. family 1のレトロトランスポゾンプローブと制限酵素Taq Iの組み合わせでサザンハイブリダイゼーションを行ったところ、コムギ・エギロプス両属には、4つのタイプ(タイプ1~4と命名)のfamily 1レトロトランスポゾンが存在することが分かった。また、タイプ2~4のレトロトランスポゾンは、コムギ・エギロプス両属の種分化の過程で増幅し、倍数化を通じて、低倍数種から高倍数種に伝達されたことが分かった。さらに、コムギ・エギロプス両属の種分化の過程で増幅したfamily 1レトロトランスポゾン(タイプ2~4)をもつ2倍種が選択的に倍数種成立に関与したようにみえることから、family 1レトロトランスポゾンが倍数種におけるゲノムの安定化に関与している可能性が考えられる。

3. イネ科植物9種から得られた177のRTクローンをを用いて近隣結合系統樹を作成した。その結果、4つのイネ科コピア

型レトロトランスポゾンファミリー（G1～4と命名）を同定できた。コムギのfamily 1とfamily 2はG1に、その他はすべてG4に分類された。G1とG4について、サイトあたりの同義塩基置換数（S）と非同義塩基置換数（N）を推定したところ、G1では同義塩基置換数と非同義塩基置換数の比（S/N）が7.08であるのに対し、G4では3.55となった。このことは、機能を失い偽遺伝子化したRT遺伝子をもつレトロトランスポゾンの比率がG4ではG1より高いことを示す。これは、family 3～7のレトロトランスポゾンの増幅機構が他律的である可能性を示唆する。

論文審査の結果の要旨

トランスポゾン的一种であるレトロトランスポゾンは、コムギやその祖先種に広く分布し、コムギの倍数性進化における役割は興味ある研究課題である。本研究は、コムギのコピア型レトロトランスポゾンのファミリー構造をPCR法で増幅・クローニングした100のレトロトランスポゾンクローンの塩基配列に基づき解析し、それらの進化的特徴を明らかにした。本論文の評価すべき点は次の通りである。

1. 100の逆転写酵素（以下RT）領域クローンの塩基配列を解析した結果、コムギには、少なくとも7つのコピア型レトロトランスポゾンファミリー（family 1～7）が存在することを明らかにした。

2. パンコムギと同じイチゴツナギ亜科に属する植物に加えて、パンコムギとは異なる亜科に属する種にも分布するコピア型レトロトランスポゾンファミリー（family 1と2、広分布域型）とイチゴツナギ亜科にのみ分布するコピア型レトロトランスポゾンファミリー（family 3, 4, 5, 7、狭分布域型）が存在することを明らかにした。

3. 広分布域型ファミリーはイネ科植物の亜科が分化する以前（6,000万年前）に形成された古いファミリーであり、狭分布域型ファミリーはイネ科の亜科の分化の後にイチゴツナギ亜科の祖先種で形成された比較的新しいファミリーである可能性を示唆した。

4. サザンハイブリダイゼーションの結果、コムギ・エギロプス両属には、4つのタイプ（タイプ1～4）のfamily 1レトロトランスポゾンが存在すること、また、タイプ2～4のレトロトランスポゾンは、コムギ・エギロプス両属の種分化の過程で増幅し、倍数化を通じて、低倍数種から高倍数種に伝達されたことを明らかにした。さらに、コムギ・エギロプス両属の種分化の過程で増幅したfamily 1レトロトランスポゾン（タイプ2～4）をもつ2倍種が選択的に倍数種成立に関与したようにみえることから、family 1レトロトランスポゾンが倍数種におけるゲノムの安定化に関与している可能性を示唆した。

5. サイトあたりの同義塩基置換数と非同義塩基置換数の推定から、機能を失い偽遺伝子化したRT遺伝子をもつレトロトランスポゾンの比率がfamily 3～7ではfamily 1, 2より高いことを示し、family 3～7のレトロトランスポゾンの増幅機構が他律的である可能性を示唆した。

以上のように、本論文はコムギとその祖先種におけるコピア型レトロトランスポゾンのファミリー構造を塩基配列の解析から明らかにしたもので、植物遺伝学ならびに植物進化学分野の発展に寄与するところが大い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成10年9月17日、論文ならびにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。