

# 論文審査の結果の要旨

氏名 那日蘇

本論文は 3 章からなり、第 1 章は、「R1 クレード LINE の正確な挿入に必要な標的配列」第 2 章は「R1 クレード LINE の正確な逆転写に必要な長いポリ A テイル」、第 3 章は「テロメア特異的、rDNA 特異的な R1 クレード LINE の細胞内局在性」。について述べられている。

第 1 章では、テロメア特異的 LINE・SART1Bm と rDNA 特異的 LINE・R7Ag が転移する際に、それぞれの LINE のエンドヌクレアーゼ (EN) が認識する配列を明らかにした。SART1Bm の EN は少なくとも 3 回連続した(TTAGG)を認識し、3 個目の TTAGG の T と A の間を切断すること、さらにその A 配列が認識には必須であることを見出した。また、R7Ag の EN は 18SrDNA の標的配列近傍の、TSD (Target Site Duplication) を含む 39 塩基 (Recognition region) を認識していることを明らかにした。さらに、R7Ag の宿主である Anopheles 蚊と解析を行った昆虫細胞 Sf9 では、TSD 内部に 3 箇所の変異が存在し、そのうち最初の塩基が認識に必須であることを見出した。先行研究のテロメア特異的 LINE・TRAS1 と今回の研究 SART1Bm、さらに先行研究の rDNA 特異的 LINE・R1 と今

回の研究 R7Ag にはそれぞれ標的認識に共通のルールが見られたことから、R1 クレードの標的配列認識機構はある程度保存されていることが本論文で明瞭となった。

第 2 章では、SART1Bm と R7Ag の逆転写が正確に起こるためには、それぞれの因子の 3'UTR に隣接した長い polyA 配列が必要であることを明らかにした。当研究室の先行研究から、R7Ag の正確な逆転写には少なくとも 20 個の polyA 配列が 3'UTR に隣接している(A20)ことが必要であることが示されていたが、本研究では、8 個の polyA (A8) では共転写産物の下流から不正確に起こることを改めて確認した。また SART1Bm に関しても同様な実験を行ったところ、A18, A10 では正確に逆転写が起こるが、A0, A5 では不正確な逆転写が起こることが判明した。以上の結果から、LINE がコードする逆転写酵素などは、3'UTR とそれに隣接する長い polyA の両者を認識して、逆転写を正確な場所から起こし、自らの転移ユニットが正しく維持されていることが示唆された。

第 3 章では、テロメア特異的 SART1Bm、rDNA 特異的 R7Ag、R1Bm の 3 種類の R1 クレードの標的特異的 LINE にコードされる Open Leading Frame (ORF) 1 と 2 が核内にどのように局在するかを明らかにした。それぞれの ORF1 タンパク質(ORF1p)と ORF2p を HA と 3xFLAG タグで標識し、Sf9 細胞での局在性を共焦点レーザー顕微鏡で観察したところ、SART1Bm では ORF1p が R1Bm と R7Ag では ORF2p が主に核に

局在していた。2つのタンパク質を共発現させると、核の辺縁部に共局在するシグナルが観察され、さらに R7Ag と R1Bm では、一部が核内の核小体領域に共局在するシグナルが観察された。以上の結果から、テロメア特異的 LINE では ORF1p に依存して、そのリボ核タンパク質(RNP)の一部が核内の標的に移行するのに対し、rDNA 特異的 LINE では ORF2p に依存して核小体の rDNA に移行する可能性が示唆された。

本研究では、上記の研究を進めるにあたり、新たに2つの転移解析システムを開発することに成功し、これらの技術はさらに LINE の詳細な転移メカニズムを明らかにすることが期待される。

なお、本論文の第1章、2章は早瀬真由美との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1614 字