

論文審査の要旨及び審査結果の要旨

令和元年入学	研究分野 遺伝学・ゲノム科学	氏名 長尾 康平
審査委員	<p>主査 東邦大学理学部 准教授 後藤 友二 副査 東邦大学理学部 教授 久保田宗一郎 副査 東邦大学理学部 教授 川田 健文 副査 東邦大学理学部 講師 山口 新平</p>	
<p>論文題目: Molecular cytogenetic analysis of highly repetitive sequences in a Japanese hagfish, <i>Eptatretus burgeri</i>: The implication of complicated elimination system (ヌタウナギ (<i>Eptatretus burgeri</i>) における高頻度反復配列の分子細胞遺伝学的解析)</p>		
<p>論文審査の要旨及び審査結果の要旨</p> <p>幾つかの生物種では、生殖細胞と体細胞の間で細胞あたりの染色体数や DNA 量が異なる現象が知られている。この現象は、染色体放出と呼ばれ、線形動物で染色質削減として 1887 年に初めて報告された後、様々な生物群で広く観察されてきた。1980～90 年代に円口類ヌタウナギ目 8 種でも同様に染色体放出が報告され、生殖細胞特異的な染色体 (E 染色体) は主にヘテロクロマチン構造をとり、高頻度反復配列で構成されていることが知られている。その中の 1 種ヌタウナギ (<i>Eptatretus burgeri</i>) では、放出染色体、すなわち体細胞では失われ存在しない染色体 (E 染色体) は 8 対 16 本、DNA 量としては生殖細胞ゲノムの約 20% に及ぶ。更にこの種ではこれまでに 11 種類の高頻度反復配列が主に生殖細胞で増幅していることが明らかとなっており、EEEb1 (Eliminated element of <i>E. burgeri</i> 1) を含む 6 種類の高頻度反復配列が全ての E 染色体上に局在することも fluorescence <i>in situ</i> hybridization (FISH) 解析により判明している。近年、学位申請者が所属する本研究室では次世代シーケンサーによるヌタウナギの生殖細胞 (2n=52) と体細胞 (2n=36) の全ゲノム解読が行われ、約 130 種類の高頻度反復配列が新たに捨てられる配列として同定されている。</p> <p>学位申請者は、全ゲノム解読以前に同定された 6 種類のうち FISH 解析が不十分であった 5 種類の反復配列 (EEEb2～6) と全ゲノム解読により新たに同定された 4 種類の高頻度反復配列 (EEEb7～10) の染色体上における分布解析を行った。加えて、本種においても放出配列として検出されてはいたが、その後、染色体上の位置が未判明であった EEEo1 と EEEo2 の染色体上の位置の解析も行った。</p> <p>まず始めに、ヌタウナギの 8 対の E 染色体全てに極めて高頻度に散在する</p>		

ため E 染色体識別指標として EEEb1 配列をマーカーに用いて、EEEb2～10 の FISH 解析を行った結果、EEEb2～9 は全ての E 染色体特異的に局在していたが、EEEb10 のみ全ての染色体に分散して存在していた。続いて共焦点顕微鏡を用いた FISH 解析により 10 配列の詳細な染色体上の局在位置を解析した結果、それらは大きく分けて 6 つのパターンに分類できた。そのうち 5 つは染色体中央部から線対称型の分布を示したことから、8 対の E 染色体は元々 1 対の染色体を起源とし、それが逆位や転座を伴う複数回の染色体倍加を経て、現在の 8 対の E 染色体になったという仮説を、学位申請者は提唱した。これに加え、fiber-FISH による解析を行った結果、クロマチン DNA 上では異なる反復配列クラスターが互いに入れ子構造となって存在していることを学位申請者は明らかにした。最後に、EEEo1 と EEEo2 のヌタウナギにおける染色体上の位置を解析した結果、生殖細胞染色体では 1 対の EEEb1 陰性、つまり体細胞でも維持されている非放出染色体に局在していた一方、体細胞染色体では 2 つの配列のシグナルは検出されなかった。以上の結果より、E 染色体が一对の染色体由来である可能性に加え、本種の染色体放出は、染色体を丸ごと捨てるだけでなく、染色体の内部欠失を伴うゲノム再編成を行っていることも、学位申請者は明らかにした。

以上、この学位申請者によって今回提示された解析結果は、ヌタウナギのおこなう染色体放出について、以下の新たな知見を示した。1) 次世代シーケンサーを使った全ゲノム解析により生殖細胞と体細胞で大きなコピー数の違いがあるとして検出された反復配列は、これまで検出されていた反復配列 (EEEb1～6) に加えて未知の反復配列を多く含み、そのうちコピー数が多く反復単位も大きい 4 配列 (EEEb7～10) を加えた計 10 配列を用いた詳細な染色体上の分布解析は、この種の E 染色体は元々 1 対の染色体を起源とし、それが逆位や転座を伴う複数回の染色体倍加を経て、現在の 8 対の E 染色体になったという可能性を示唆する。2) 生殖細胞特異的な染色体 (E 染色体) 上で高度に増幅されているが、そのコピー数が少ないため FISH 解析では検出できないと考えられていた EEEo1、EEEo2 の 2 種類の反復配列が、ともに E 染色体以外的一对の染色体上から FISH シグナルとして検出され、さらに体細胞ではこのシグナルは失われているため、本種の染色体放出は、染色体を丸ごと捨てるだけでなく、染色体の内部欠失を伴うゲノム再編成を行っている可能性を強く支持する。この知見はこの種やこの仲間の染色体放出機構や E 染色体の構造のみならずその起源と進化を考察する上で大変意義深い貴重なデータである。学位申請者は、関連分野についての知識並びに語学においても十分な能力を有する。よって審査委員一同は、学位申請者が博士 (理学) に十分に足るものであることをここに認める。