

氏 名 保 和人

学位(専攻分野) 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第 2668 号

学位授与の日付 2026 年 3 月 24 日

学位授与の要件 生命科学研究科 基礎生物学専攻
学位規則第6条第1項該当

学位論文題目 イベリアトゲイモリにおけるゲノム巨大化とイントロン領域へのト
ランスポゾン集積

論文審査委員 主 査 藤森 俊彦
基礎生物学コース 教授
三浦 正幸
基礎生物学コース 教授
鈴木 賢一
基礎生物学コース 准教授
林 利憲
広島大学 両生類研究センター 教授

博士論文の要旨

氏 名：保 和人

論文題目：イベリアトゲイモリにおけるゲノム巨大化とイントロン領域へのトランスポゾン集積 (Genome Expansion and Transposon Accumulation in Intronic Regions of the Iberian Ribbed Newt)

Vertebrate genome gigantism is frequently accompanied by recurrent bursts of transposable element (TE) activity, yet how such bursts reshape gene architecture and transcription over evolutionary time remains unclear. Urodele amphibians (newts and salamanders) provide an extreme natural experiment: their genomes can exceed 20 Gb while maintaining broadly conserved protein-coding repertoires. I asked how genes tolerate persistent TE invasion without immediate catastrophic disruption of coding sequences and regulatory landscapes.

In this study, I aimed to define how TE accumulation contributes to genome expansion through gene-body inflation and to test whether TE-driven intron expansion is coupled to reduced transcription across loci. I focused on the Iberian ribbed newt *Pleurodeles waltl* (*P. waltl*; assembled span ~20.3 Gb) and compared it with the compact genome of the western clawed frog *Xenopus tropicalis* (*X. tropicalis*; estimated genome size ~1.7 Gb). To capture both long-term accumulation and very recent events, I also compared two independently assembled *P. waltl* genomes generated from inbred lineages in Japan and Europe.

To connect genome structure with transcription, I integrated gene and repeat annotations with high-fidelity (HiFi) genome assemblies and three expression datasets: RNA sequencing (RNA-seq), Cap Analysis of Gene Expression (CAGE; total RNA), and Nascent-Transcript Cap Analysis of Gene Expression (NET-CAGE; nascent RNA). I quantified expression as reads per million (RPM) for each dataset and evaluated locus structure using multi-track genome-browser visualizations and dot-plot comparisons of

syntenic regions between the two *P. waltl* assemblies. Within gene bodies, I calculated repeat occupancy as the fraction of gene-body bases annotated as TEs and summarized contributions from major TE classes.

I first examined a conserved syntenic region containing a ferritin heavy chain-family (*Fth*) gene cluster and twelve orthologous neighboring genes. In *X. tropicalis*, four compact *fth* genes reside within a short interval, whereas in *P. waltl* seven *Fth* paralogs occupy a dramatically expanded region while flanking gene order remains largely conserved. Within this locus, I observed a continuum of intronic TE invasion: some paralogs remain minimally expanded with few intronic insertions, whereas others are enlarged several-fold by diverse TE classes. Importantly, even in strongly inflated paralogs, transcriptome-supported mRNA sequences preserve an intact open reading frame (ORF), consistent with efficient splicing-mediated removal of TE-containing introns.

Despite frequent ORF preservation, transcriptional profiling revealed that gene-body inflation is commonly associated with reduced transcription. Across *Fth* paralogs, CAGE, NET-CAGE, and RNA-seq signals were inversely related to gene-body length, consistent with transcriptional attenuation for enlarged paralogs. I then tested whether this relationship generalizes by analyzing two additional liver-enriched loci: *albumin* (*Alb*) and *vitellogenin* (*Vtg*). At the *Alb* locus, three conserved albumin-family genes show large TE-driven intron expansion without changes in exon number, while transcription decreases as gene bodies enlarge. The *Vtg* cluster exhibited an even broader spectrum of outcomes, including a massively inflated *Vtg* locus with extensive TE accumulation and markedly reduced transcription. I also observed cases in which transcriptional repression coincides with detectable coding disruption and dispersed exon-like remnants between intact *Vtg* genes, suggesting that prolonged TE attack can eventually fragment gene architecture.

To evaluate whether genome expansion is ongoing, I compared syntenic segments

between the Japanese and European *P. waltl* assemblies and detected lineage-specific insertions, including a recent long terminal repeat (LTR) retrotransposon integration in the downstream region of an *Fth* gene in only one lineage. Additional small insertions and residual fragments of other mobile elements in the same interval further supported very recent activity. These differences between closely related inbred lineages provide direct evidence that TE insertion continues in the new genome and that genome gigantism is an active, ongoing process.

Finally, I identified *Boul*, a testis-enriched, TE-derived locus encoding a reverse transcriptase (RT) and RNase H-like region and, in an alternative reading frame, recombinase-like proteins. Although its molecular role remains hypothetical, its strong testis-biased expression highlights a germline context in which TE-derived genes and TE dynamics may still be shaped by host regulation. Taken together, my results portray genome gigantism as a punctuated yet persistent process driven by successive waves of TE invasion that variably inflate gene bodies, reduce transcription, and diversify gene fates. I propose an evolutionary model in which introns act as protective buffers that absorb TE insertions, helping shield coding exons from immediate disruption and delaying gene decay until transcription is reduced and selective constraints are relaxed.

博士論文審査結果

Name in Full 氏名 ぼう かずと
保 和人

論文題目 イベリアトゲイモリにおけるゲノム巨大化とイントロン領域へのトランスポゾン集積

本論文は、有尾両生類であるイベリアトゲイモリ (*Pleurodeles waltl*) が有する約 20.3 Gb という巨大ゲノムに着目し、その進化的形成過程をトランスポーザブル・エレメント (TE) の動態という観点から解明することを目的とした研究である。すでにゲノムの巨大化は TE によってもたらされていることが示されていたが、それが個々の遺伝子構造や機能にどのような影響を与えてきたのかについては十分な理解が得られていなかった。そこで、本研究では、イモリと同じ両生類に属する約 1.5 Gb という比較的コンパクトなゲノムをもつネッタイツメガエル (*Xenopus tropicalis*) との比較ゲノム解析を通じて、また、2025 年に日本および欧州で独立に構築された 2 種類のイベリアトゲイモリのリファレンス・ゲノムを比較することで、ゲノム巨大化が進化の過程でどのように進行し、現在もなお継続しているかを分子レベルで明らかにしようとした。特に本研究では、肝臓で高発現しているフェリチン (*Fth*)、アルブミン (*Alb*)、ビテロジェニン (*Vtg*) といった 3 つの遺伝子クラスターに着目し、トランスクリプトーム、CAGE、NET-CAGE 解析を組み合わせた包括的解析を実施している。

その結果、以下の重要な知見を得ている。(1) イモリゲノムでは、肝臓で高発現している遺伝子の一部で遺伝子コピー数の顕著な増幅がみられ、イントロン領域へのトランスポゾン挿入が連続的に起きたことで、それらの遺伝子領域 (gene body) の著しい拡大が引き起こされていることを示した。(2) フェリチンやアルブミンなどの一部遺伝子では、遺伝子領域が数倍から数十倍に肥大化しているにもかかわらず、スプライシングによって TE 配列が効率的に除去され、成熟 mRNA におけるオープンリーディングフレーム (ORF) が保持されていることを確認した。(3) 一方で、ビテロジェニン遺伝子クラスターにおいては、TE の過剰な蓄積に伴い、転写活性が低下し、さらに変異の蓄積によって偽遺伝子化やエクソン-イントロン構造の崩壊へと至る遺伝子群の存在が明らかされた。(4) 日本系統と欧州系統のイモリゲノムを直接比較することにより、トランスポゾンの新規挿入が現在も進行中であることを示し、ゲノム巨大化が過去の出来事ではなく現在進行形のプロセスであることを示唆した。(5) さらに、精巣で特異的に高発現するユニークな構造をもつ TE 由来遺伝子 *Bou1* を同定し、生殖系列における TE 活性による現在進行形のゲノム巨大化の可能性を提示した。

本論文の最大の学術的意義は、ゲノム巨大化を単なる TE の量的蓄積としてではなく、「遺伝子構造の動的再編成プロセス」として捉え直した点にある。特に、イントロンが TE 挿入に対する緩衝材 (protective buffer) として機能し、遺伝子機能の破綻を遅延させるという概念は、新規性が高く、今後の比較ゲノム学および進化生物学に重要な視点を提供するものである。

また、再生能力の高い有尾両生類に特有の巨大ゲノムが、どのような進化的制約と許容のもとで維持されてきたのかを具体的な分子事例に基づいて示した点は、再生研究とゲノム進化研究を架橋する成果として高く評価できる。

審査会において出願者は、膨大かつ複雑な解析結果を整理し、論理的かつ明快に説明した。質疑応答では、TE 挿入の確率論的側面、転写抑制の因果関係、ならびに再生能力との関連性について質問がなされたが、出願者は自身のデータに基づいた適切かつ冷静な回答を行った。一部、将来的な解析の拡張や他種への一般化の可能性についての課題が指摘されたものの、いずれも本論文の完成度や結論を損なうものではなく、今後の研究展開として期待される内容であった。

以上のように、本論文は、イベリアトゲイモリの巨大ゲノム形成機構を分子レベルで詳細に解明し、ゲノム巨大化と遺伝子運命の関係について新たな概念的枠組みを提示する優れた研究成果であると判断された。とりわけ、トランスポゾン挿入が必ずしも直ちに遺伝子機能の喪失につながるのではなく、イントロン構造を介して一時的に受容・緩衝され得ることを提示した点は、高い独創性があると評価された。また、複数の独立に構築されたリファレンス・ゲノムを用い、さらにトランスクリプトーム解析や自ら行った NET-CAGE 解析を組み合わせることにより、結果の再現性と信頼性を高めている点も、本研究の強みとなっている。膨大なゲノムサイズに起因する解析上の困難を克服し、遺伝子ごとの詳細な構造変化と発現制御を丹念に追跡した点は、出願者の高い技術力と研究遂行能力を示していると判断した。

さらに、本論文で得られた知見は、有尾両生類にとどまらず、巨大ゲノムを有する他の脊椎動物や植物におけるゲノム進化の理解にも波及効果を持つと考えられる。*Bou1* に代表される特異な TE 由来遺伝子の解析は、トランスポゾンと生殖系列と巨大ゲノム化の関係を考える上で重要な手がかりを提供しており、今後の発展が大いに期待される。

以上を総合すると、本論文は研究の独創性、解析の厳密さ、ならびに学術的貢献度のいずれの点においても博士論文として十分な水準に達していると認識された。また、博士論文も英語で書かれていること、博士論文の内容が既に国際誌への掲載が決まっていることから英語能力についても十分であると判定された。以上により審査委員会は、本論文が博士学位の授与に相応しい研究であると認定した。なお、審査会については令和 8 年 1 月 28 日に、基礎生物学研究所の第一セミナー室で行った。