

Title	Amplification of the MITE mPing with the embryogenesis-specific expression of the transposon Ping in rice(Abstract_要旨)
Author(s)	Teramoto, Shota
Citation	Kyoto University (京都大学)
Issue Date	2014-07-23
URL	https://doi.org/10.14989/doctor.k18526
Right	許諾条件により本文は2014-10-01に公開
Type	Thesis or Dissertation
Textversion	ETD

(続紙 1)

京都大学	博士 (農 学)	氏名	寺本 翔太
論文題目	Amplification of the MITE <i>mPing</i> with the embryogenesis-specific expression of the transposon <i>Ping</i> in rice (イネトランスポゾン <i>Ping</i> の胚発生特異的な発現がMITE <i>mPing</i> の増殖を促進する)		
(論文内容の要旨)			
<p>トランスポゾン(転移因子)は、染色体上を移動できるDNA断片であり、真核生物のゲノムの大きな部分を占める。転移因子はRNAへの逆転写を介して転移するクラスIとDNA断片が直接転移するクラスIIとに大別される。ゲノム中のコピー数に関して、クラスIはコピー数が数千から数万コピーまで達するものが多数あるが、クラスIIの多くは50コピー程度である。ところが、クラスIIの転移因子の一種であるMITE (miniature inverted-repeat transposable element) の中には、ゲノム内に数千から数万コピー存在しているものがある。MITEが遺伝子に富むゲノム領域に散在し隣接する遺伝子の発現に影響を与えることから、MITEの転移や増殖は真核生物の進化にも重要な役割を担ってきたと考えられるが、MITEが宿主ゲノムによる転移因子の抑制を回避して増殖できる機構は不明であった。</p> <p><i>mPing</i> (miniature <i>Ping</i>) はイネに見出されたMITEの一種である。<i>mPing</i>はほとんどのイネ品種では50コピー以下であるが、例外的に品種‘銀坊主’では1000コピー以上存在し、しかも‘銀坊主’ゲノム内では高い転移活性を保有している。動植物を通して、転移活性を示すMITEの報告例は<i>mPing</i>以外には極めて希である。したがって、‘銀坊主’における<i>mPing</i>の転移・増殖機構の解明はMITEのゲノム中での増殖を可能にする機構解明に繋がる。本論文では<i>mPing</i>の転移・増殖機構の解明のために以下の研究を行った。</p> <p>1. 新たに転移した<i>mPing</i>が高い頻度で次世代に遺伝することから、生殖細胞における<i>mPing</i>の転移が疑われた。そこで、<i>mPing</i>転移活性が高い‘銀坊主’と<i>mPing</i>転移が抑制されている‘日本晴’との正逆交雑F₁植物における、<i>mPing</i>の新規挿入数をトランスポゾン・ディスプレイ法(TD法)によって調査した。もし、‘銀坊主’の雌雄どちらかの生殖細胞で<i>mPing</i>が選択的に転移するなら、‘銀坊主’を花粉親もしくは種子親にしたときのみ、<i>mPing</i>の転移(新規挿入因子)が観察されるはずである。しかし、正逆F₁植物における<i>mPing</i>新規挿入数には差異は認められず、転移活性化因子は花粉親側にも種子親側にも等しく存在することを確認できた。つぎに、‘銀坊主’の器官発生の順に部位別の<i>mPing</i>の新規挿入数をTD法によって観察した。この結果、胚乳特異的な新規挿入が認められないこと、幼根および地上部に共通する新規挿入が認められないことから、<i>mPing</i>転移は生殖細胞ではなく受精後地下部と地上部とに分化した後の胚細胞で生じていると結論できた。さらに、第1葉に認められる新規挿入は、その後に分化する葉全てに認められたことから、<i>mPing</i>が最も活発に転移する時期は、受精後に胚が地下部と地上部とに分化する受精後3日目から第1葉が分化するまでの受精後5日目であることを示した。</p> <p>2. <i>mPing</i>は非自律性の転移因子であるため、<i>mPing</i>の転移には自律性因子である<i>Ping</i>もしくは<i>Pong</i>の転写産物が必要となる。‘銀坊主’の受精後1~6日目までの子房において<i>Ping</i>の発現は認められたが、<i>Pong</i>はいずれの時期においても全く発現していなかった。さらに、受精後3日目の胚において<i>Ping</i>の発現量の顕著な増加が観察された。これに対して、<i>mPing</i>転移活性がない‘日本晴’では、受精後の胚における時期・組織特異的な<i>Ping</i>の発現変化は観察されなかった。以上のことから、<i>mPing</i>の時期・組織特異的な転移には<i>Ping</i>の転写産物の一定程度以上の集積が必要であることを明らかにした。</p> <p>3. <i>mPing</i>の転移活性の制御要因を明らかにするために、‘銀坊主’と‘日本晴’</p>			

の*Ping*の全長をシーケンスしたところ、*Ping*がコードするORF1のイントロン領域に一塩基多型 (SNP) が確認された。当該箇所には‘銀坊主’がCの塩基を、‘日本晴’がTの塩基を保有していたことから、前者をCタイプ*Ping*、後者をTタイプ*Ping*とした。*mPing*の転移活性が認められる‘愛国’系2品種ならびに転移活性が認められない‘愛国’系1品種および‘銀坊主’系1品種の*Ping*のタイプを調査した結果、前者はCタイプ*Ping*を、後者はTタイプ*Ping*を保有していた。以上の結果から、時期・組織特異的な*mPing*の転移活性の上昇は*Ping*のSNPに制御されている可能性が高いことを示した。

注) 論文内容の要旨と論文審査の結果の要旨は1頁を38字×36行で作成し、合わせて、3,000字を標準とすること。
論文内容の要旨を英語で記入する場合は、400～1,100 wordsで作成し
審査結果の要旨は日本語500～2,000字程度で作成すること。

(論文審査の結果の要旨)

転移因子の転移・増殖機構の解明は生物のゲノム進化を考える上で必要不可欠である。転移因子の一員であるMITEは植物ゲノムの主要な構成因子であるが、その転移・増殖機構は不明であった。本論文は、MITEの一種である*mPing*の転移・増殖機構を世界で初めて決定し、MITEの増殖機構の一端を明らかにしたものである。評価される点は以下の3点である。

1. *mPing*の転移・増殖機構を明らかにするため、*mPing*の転移活性を示す‘銀坊主’の生殖細胞および個体発生過程における*mPing*の転移を詳細に観察した。その結果、*mPing*は受精後3日目から5日目の発生初期段階の胚で時期・組織特異的に転移していた。発生初期の胚で転移することが、新たに転移した*mPing*が高頻度で次世代に伝達されゲノム内のコピー数が増殖する要因のひとつであることを明らかにした。

2. *mPing*は自律性転移因子*Ping*および*Pong*から供給される転写産物によってゲノム内を転移することができる。‘銀坊主’の*mPing*転移時における*Ping*および*Pong*の発現量と発現箇所とを調査したところ、受精後3日目の胚で*Ping*の発現量が特異的に上昇することを見出した。これらのことから、*Ping*の転写産物の時期・組織特異的な集積が*mPing*転移の引き金になっていることを明らかにした。さらに、*Ping*の発現が時期・組織特異的であることが、転移因子に対するゲノム側の転移因子抑制機構が効果的に働かない原因のひとつになっていることを示唆した。

3. ‘銀坊主’の*Ping*と*mPing*の転移活性をもたない‘日本晴’の*Ping*との間には、*Ping*のORF1の第1イントロンに一か所ある一塩基多型 (SNP) を認めた。さらに、‘銀坊主’以外の*mPing*転移活性が高い品種も銀坊主と同型の*Ping*を保有していた。これらのことから、*Ping*の時期・組織特異的な発現上昇が*Ping*のイントロン内のSNPに影響されている可能性を提示した。

以上のように、本論文はイネのMITEの一種、*mPing*の転移・増殖機構の一端を明らかにすることによって、転移因子MITEの転移・増殖機構を解明するための重要な手がかりを初めて示したものであり、育種学、遺伝学、およびゲノム進化学の発展に寄与するところが大きい。

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26年6月19日、論文並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。

注) 論文内容の要旨、審査の結果の要旨及び学位論文は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。

ただし、特許申請、雑誌掲載等の関係により、要旨を学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日以降 (学位授与日から3ヶ月以内)