

植物トランスポゾンと宿主ゲノムの間で構築された 遺伝機構に関する研究

学位論文内容の要旨

高等植物のゲノムにはトランスポゾンが数多く含まれている。トランスポゾンの転移が宿主遺伝子の発現や遺伝子構造に与える影響は、遺伝的な変異として形質に表れる。そのため宿主生物の適応度を大幅に下げる一方で、多様性に富んだ形質をもたらす長所もある。植物と動物を比較すると、植物ではトランスポゾンが原因となって発生する変異の割合が高いといわれる。動いて身の危険を回避することのできる動物に対し、固着生活をおくる植物にとって、トランスポゾンの生み出した遺伝的多様性が適応進化の原動力となってきたことを示した事例もある。トランスポゾンの転移により生じた変異の中には、宿主遺伝子の機能を損ねない変化が発生する事例が数多く報告されている。なかでも McClintock が見出した *Spm-suppressible allele* における古典的遺伝現象では、トウモロコシのトランスポゾン *dSpm* がプロモーター領域に挿入しても、転移酵素遺伝子をコードする自律性因子 *Spm* が共存しない限り *dSpm* の挿入を受けた遺伝子の発現は妨げられない。この遺伝子が発現できるのは、*dSpm* がプロモーター構造に何らかの転写活性の維持機能をもつためと考えられているが、状況証拠を得るに止まり、その根底にあるメカニズムを証明するに至っていない。

第2章では、キンギョソウとそのゲノムに内在するトランスポゾン *Tam3* に着目し、この問題に取り組んだ。これまでキンギョソウで見出された *Tam3* が挿入されている遺伝子では、転写あるいは発現能力を示す、いわゆる“*Tam3-permissible allele*”が多数を占めている。その中でもプロモーター領域に挿入があるものは TATA-box より上流 200 bp 以内に、転写と同じ向きの *Tam3* の挿入があり、プロモーターの中核部位を *Tam3* が分断した場合でも遺伝子の転写活性は維持されている。これらを *niv^{ec}-like permissible allele* と呼び、*Spm-suppressible allele* の問題と置き換えて、その機構の解明に向け解析を行った。*Spm-suppressible allele* では自律性因子の有無が遺伝子の発現を左右しているが、*niv^{ec}-like permissible allele* は TPase の有無にかかわらず遺伝子の発現が起こるため、トランスポゾンを介した遺伝子発現機構を調べる上で、*niv^{ec}-like permissible allele* はプロモーターに挿入したトランスポゾンの直接の効果を見ることができる点で優れている。著者は転写シスモチーフ、転写開始点および DNA メチル化などの既知の遺伝子発現に関連した調査を行い、いずれの場合も *permissible allele* に当てはめることはできなかった。そこで *niv^{ec}-like permissible allele* に共通する *Tam3* の挿入様式（遺伝子との配置関係）

に原因があると考え、その遺伝子構造を酵母ゲノムにおいて構築し、発現解析を行った。酵母では、*niv^{rec}*-like permissible allele にみられる発現様式が忠実に再現された。さらに、*nivea* 座のプロモーター領域に挿入した Tam3 の 3'側の配列が規定するヌクレオソームの配置と、遺伝子の転写活性の間に高い相関を見いだした。著者は、他のキンギョソウ *niv^{rec}*-like permissible allele でも共通して Tam3 の 3'側が安定してヌクレオソーム構造を形成することを確認し、この領域が酵母の遺伝子においても同じように働くと推定できた。結論として *niv^{rec}*-like permissible allele の協調的遺伝子発現を可能にしたのは、Tam3 の 3'側配列の物性的特徴、クロマチンコードであることが強く示唆された。

高等植物に含まれるトランスポゾンの大部分は、転移が抑制されている。真核生物の備える DNA メチル化機構や RNAi 経路などエピジェネティックなトランスポゾンサイレンシング機構はトランスポゾンの転移やウイルスの進入などから自身のゲノムの守るために発達してきた汎用的機構である。しかし、トランスポゾンと宿主との密接な進化から生じた遺伝的な相互作用として獲得されたものではない。キンギョソウでは、宿主ゲノムとの共進化過程で獲得されたと考えられる遺伝的な制御機構が複数見出されている。Tam3 の低温依存性転移 (LTDT) は、キンギョソウが低温で生育された時に転移が起こり、高温時では転移が抑制される転移機構を指し、温度に応じた Tam3-TPase の核局在性が宿主因子に調節されることに起因した反応である (Hashida *et al.*, 2006)。Stabiliser (*St*) や New Stabiliser (*NSi*) と呼ばれる 2 つの主働遺伝子は、Tam3 の転移を完全に抑制する。第 3 章では宿主の転移抑制遺伝子 *St* および *NSi* 遺伝子による Tam3 の転移抑制機構の解析を行った。キンギョソウの胚形成期には *NSi* を除き、LTDT や *St* は Tam3 の転移を制御できないことを見出し、新たな Tam3 の転移制御機構が存在することを明らかにした。*St* および *NSi* は、転移酵素遺伝子の発現を阻害する方法で Tam3 の転移を抑制していないことを示し、既知のエピジェネティックな機構とは異なることを裏付けた。可能性のあるメカニズムとして Tam3-TPase の結合部位に別のタンパク質が結合するモデルを考えた。さらに *St* および *NSi* 遺伝子の単離を進めた結果、両遺伝子に Tam3 が強く連鎖することを突き止め、ゲノムライブラリーのスクリーニングから得られた両遺伝子の構造的な特徴と遺伝子の機能を考察した。

本論文では、キンギョソウとそのゲノムに内在するトランスポゾン Tam3 に見出された共存的な関係に着目し、トランスポゾンを介在した転写の調節機構と宿主によるトランスポゾンの転移抑制機構について研究を行った。トランスポゾンの活動に適したゲノムをもつ植物において、両者の間で構築された協調機構と制御機構の 2 つの遺伝機構を具体的に示し、両機構の解析を通じて植物ゲノムにおけるトランスポゾンの活動が進化的に維持されてきた原因となるメカニズムを提示した。形質の遺伝的な安定性を考える時、トランスポゾンの転移は育種学的にも重要な要因となる。本論文では「トランスポゾンと宿主との関係」という側面からそれらの性質を捉えてきた。トランスポゾンには個々の特性があり、統一的には扱いつらいが、植物トランスポゾンの多くはゲノムの中で共に安定してその活性を維持してきた。本研究によって得られたトランスポゾンと宿主の間の遺伝機構に関する知見が、形質の安定性や変異創成が求められる作物育種に資することを期待する。

学位論文審査の要旨

主 査	准教授	貴 島 祐 治
副 査	教 授	佐 野 芳 雄
副 査	教 授	三 上 哲 夫
副 査	講 師	藤 野 介 延

学 位 論 文 題 名

植物トランスポゾンと宿主ゲノムの間で構築された 遺伝機構に関する研究

高等植物のゲノムには動く遺伝子として知られるトランスポゾンが数多く含まれている。トランスポゾンの転移が宿主遺伝子の発現や遺伝子構造に与える影響は、遺伝的な変異として形質に表れる。そのため宿主生物の適応度を大幅に下げる一方で、多様性に富んだ形質をもたらす長所もある。植物と動物を比較すると、植物ではトランスポゾンが原因となって発生する変異の割合が高いといわれる。動いて身の危険を回避することのできる動物に対し、固着生活をおくる植物にとって、トランスポゾンの生み出した遺伝的多様性が適応進化の原動力となってきたことを示した事例もある。トランスポゾンの転移により生じた変異の中には、宿主遺伝子の機能を損ねない変化が発生する事例が数多く報告されている。

本論文では、キンギョソウとそのゲノムに内在するトランスポゾン Tam3 に見出された共存的な関係に着目し、トランスポゾンを介在した転写の調節機構と宿主によるトランスポゾンの転移抑制機構について研究を行った。トランスポゾンの活動に適したゲノムをもつ植物において、両者の間で構築された協調機構と制御機構の2つの遺伝機構を具体的に示し、両機構の解析を通じて植物ゲノムにおけるトランスポゾンの活動が進化的に維持されてきた原因となるメカニズムを提示した。形質の遺伝的な安定性を考える時、トランスポゾンの転移は育種学的にも重要な要因となる。本論文では「トランスポゾンと宿主との関係」というこれまでにない独自の側面からそれらの性質を捉えている。よって審査員一同は内山 貴子が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。

以下、具体的な論旨は以下のようにまとめられる。

トランスポゾンの協調機構としては、McClintock が見出した Spm-suppressible allele における古

典型的遺伝現象が知られている。トウモロコシのトランスポゾン dSpm がプロモーター領域に挿入しても、その遺伝子の発現は妨げられないことがある。この遺伝子が発現できるのは、dSpm がプロモーター構造に何らかの転写活性の維持機能をもつためと考えられているが、状況証拠を得るに止まり、その根底にあるメカニズムを証明するに至っていない。

内山氏は、キンギョソウとそのゲノムに内在するトランスポゾン Tam3 に着目し、この問題に取り組んだ。これまでキンギョソウで見出された Tam3 が挿入されている遺伝子では、転写あるいは発現能力を示す。Nivea 座の中にはプロモーターの中核部位を Tam3 が分断した場合でも遺伝子の転写活性が維持される対立遺伝子があり、このような対立遺伝子を総称して *niv^{ec}-like permissible allele* と呼び、Spm-suppressible allele の問題と置き換えて、その機構の解明に向け解析を行った。著者は転写シスモチーフ、転写開始点および DNA メチル化などの既知の遺伝子発現に関連した調査を行い、いずれの場合も Spm-suppressible allele に当てはめることはできなかった。そこで *niv^{ec}-like permissible allele* に共通する Tam3 の挿入様式（遺伝子との配置関係）に原因があると考え、その遺伝子構造を酵母ゲノムにおいて構築し、発現解析を行った。酵母では、*niv^{ec}-like permissible allele* にみられる発現様式が忠実に再現された。さらに、*nivea* 座のプロモーター領域に挿入した Tam3 の 3' 側の配列が規定するヌクレオソームの配置と、遺伝子の転写活性の間に高い相関を見いだした。著者は、他のキンギョソウ *niv^{ec}-like permissible allele* でも共通して Tam3 の 3' 側が安定してヌクレオソーム構造を形成することを確認し、この領域が酵母の遺伝子においても同じように働くと推定できた。結論として *niv^{ec}-like permissible allele* の協調的遺伝子発現を可能にしたのは、Tam3 の 3' 側配列の物性的特徴、クロマチンコードであることが強く示唆された。

高等植物に含まれるトランスポゾンの大部分は、転移が抑制されている。真核生物の備える DNA メチル化機構や RNAi 経路などエピジェネティックなトランスポゾンサイレンシング機構はトランスポゾンの転移やウイルスの進入などから自身のゲノムを守るために発達してきた汎用的機構である。しかし、トランスポゾンと宿主との密接な進化から生じた遺伝的な相互作用として獲得されたものではない。キンギョソウでは、宿主ゲノムとの共進化過程で獲得されたと考えられる遺伝的な制御機構が複数見出されている。*Stabiliser* (*St*) や *New Stabiliser* (*NSt*) と呼ばれる 2 つの主働遺伝子は、Tam3 の転移を完全に抑制する。著者は宿主の転移抑制遺伝子 *St* および *NSt* 遺伝子による Tam3 の転移抑制機構の解析を行った。キンギョソウの胚形成期に *St* は Tam3 の転移を制御できないことを見出し、新たな Tam3 の転移制御機構が存在することを明らかにした。*St* および *NSt* は、転移酵素遺伝子の発現を阻害する方法で Tam3 の転移を抑制していないことを示し、既知のエピジェネティックな機構とは異なることを裏付けた。可能性のあるメカニズムとして Tam3-TPase の結合部位に別のタンパク質が結合するモデルを考えた。さらに *St* および *NSt* 遺伝子の単離を進めた結果、両遺伝子に Tam3 が強く連鎖す

ることを突き止め、ゲノムライブラリーのスクリーニングから得られた両遺伝子の構造的な特徴と遺伝子の機能を考察した。