

(論文内容の要旨)

真核生物のゲノム中には、莫大な数の転移因子が存在し、ゲノムの大部分を構成している。転移因子は、長い間、寄生性の利己的塩基配列であると考えられてきたが、現在では、遺伝的多様性やゲノム進化に直接関わる重要な因子であると認識されている。MITE (MITE: miniature inverted-repeat transposable element) と呼ばれる転移因子は、転移酵素のコード領域をもたない600塩基対以下の小さなトランスポゾンであるが、ゲノム中での数的割合が圧倒的に大きいことから、転移因子の中で進化上もっとも重要な因子であると考えられている。しかし、転移活性を有するMITEの発見は2003年のことであり、MITEの転移とイネゲノムの進化との関係については実験的検証がほとんどなされていない。本研究は、近年発見された転移活性をもつMITE・*mPing*とその自律性因子*Ping*および*Pong*から成る*mPing*ファミリーおよび他の7種類のMITEの*Oryza*属における分布、増殖および転移を解析し、MITEとゲノム進化との関係を明らかにしようとしたものである。以下に成果の概要を示す。

1. *Oryza*属19種のゲノムにおける既知のMITE (*Castaway_Os1*, *Ditto-Os1*, *Kiddo*, *mPing*, *Mashu*, *Stowaway2_Os-like*, *Stowaway17_Os-like*および*Wanderer*) の存在の有無をPCRによって調査したところ、*Mashu*, *Wanderer*および*Stowaway17_Os-like*はすべてのAAゲノム種に、*Castaway_Os1*は*O. meridionalis*を除くすべてのAAゲノム種に、*Stowaway2_Os-like*はAAゲノム種のほか*O. punctata* (BBおよびBBCCゲノム種) および*O. minuta* (BBCCゲノム種) に、*Kiddo*はAA、BB、BBCCおよびCCゲノム種に存在することが明らかになった。*Ditto_Os1*は、AA、BB、BBCC、CC、CCDD、EEおよびFFゲノム種に存在し、調査した8つのMITEの中でもっとも広い分布を示した。*mPing*は、もっとも狭い分布を示し、19の*Oryza*種の中で*O. sativa*とその祖先種である*O. rufipogon*にのみ存在していた。これらの結果から、*mPing*は、*Oryza*属の進化の過程において他のMITEよりも後から生じたMITEであること、すなわち、*Oryza*属の中で進化上若いMITEであることが明らかとなった。

2. *O. rufipogon*における*mPing*の転移活性の有無を明らかにするため、37アクセッションにおける*Ping*および*Pong*の分布をPCRによって調査した。その結果、*Pong*はすべてのアクセッションに存在するが、*Ping*は17のアクセッションにしか存在しないことが明らかとなった。*mPing*のトランスポゾンディスプレイ (TD) 解析を行ったところ、*mPing*の挿入部位とコピー数はアクセッション間で大きく異なることが明らかになった。一方、*Kiddo*は、アクセッション間でコピー数が異なるものの、いくつかのコピーはすべてのアクセッション間で共通の部位に存在していた。これらのことから、*mPing*は*O. rufipogon*においても、現在なお、活性を有していると考えられた。つぎに、*O. rufipogon*内でのゲノムの多様化と*mPing*ファミリーの分布および増殖との関係を明らかにするために、脱粒性を支配する

主要なQTL (quantitative trait locus) である *qSH1* 周辺の塩基配列を用いて *O. rufipogon* の系統樹を作成したところ、本研究に供試した *O. rufipogon* は *mPing* のコピー数や *Ping* の有無とは無関係に3つのクラスターに分類された。このことから、*mPing* ファミリートランスポゾン は *O. rufipogon* アクセッション間の共通の祖先種において形成され、その後、*Ping* のみがいくつかのアクセッションのゲノム内でランダムドリフトや自然選択によって消失したと考えられた。

3. *O. sativa* 以外の *Oryza* 種における *mPing* を用いたトランスポゾンタギング法を確立するために、アフリカの栽培種である *O. glaberrima* (供与親) に *O. sativa* の熱帯 *japonica* 品種 (反復親) を8回戻し交雑して得られたNERICA (new rice for Africa) 22 系統における *mPing* ファミリーの分布を調査した。PCRの結果、供与親は *mPing* ファミリーに属するいずれのトランスポゾンももたなかったが、NERICA系統および反復親は *mPing* と *Pong* を有していることが明らかとなった。TD解析において22のNERICA系統が親品種がもたない新規バンドを有していたことから、これらの系統における *mPing* の転移が明らかになった。*mPing* 挿入部位特異的PCRを行ったところ、TD解析における新規のバンドは、新規に挿入された *mPing* に由来すること、および切り出された *mPing* は、これまでの報告と同様に、遺伝子内部もしくはその近傍に挿入されやすいことが明らかとなった。また、11のNERICA系統においては、*mPing* のみならず、*Pong* も転移していることが明らかとなった。これらのことから、NERICA系統における *mPing* および *Pong* の転移は、供与親である *O. glaberrima* からの外来ゲノムの導入によって誘発されたと考えられた。

4. 以上の結果から、*mPing* ファミリートランスポゾンは、*O. sativa* のみならず、*O. rufipogon* の多様性にも大きく貢献していると推察された。また、*mPing* は、種々の *Oryza* 種、品種および系統におけるトランスポゾンタギングに有効であることが明らかとなった。

(論文審査の結果の要旨)

MITE (miniature inverted-repeat transposable element) は、コピー数が多く、遺伝子近傍に挿入されやすいことから、生物の進化に大きく貢献してきたと考えられている。イネにおいて、転移活性を有する *mPing* ファミリートランスポゾン (*mPing*、*Ping* および *Pong*) が同定されているが、それらとイネのゲノム進化との関係は未解明である。本研究は、*Oryza* 属における8種類のMITEの分布を調査するとともに、*O. sativa* の祖先種である *O. rufipogon*、および *O. sativa* の *O. glaberrima* への戻し交雑によって得られたNERICA (new rice for Africa) 系統における *mPing* ファミリートランスポゾンの増殖および転移を解析し、MITEとゲノム進化との関係を明らかにしようとしたものである。本研究の評価すべき点は以下のとおりである。

1. *Oryza* 属19種における既知のMITE (*Castaway_Os1*、*Ditto-Os1*、*Kiddo*、*mPing*、*Mashu*、*Stowaway2_Os-like*、*Stowaway17_Os-like* および *Wanderer*) の有無をPCRによって調査し、*mPing* が *Oryza* 属の中で進化的に若いMITEであることを明らかにした。
2. 37アクセッションの *O. rufipogon* における *Ping* および *Pong* の分布をPCRによって調査し、*Pong* はすべてのアクセッションに存在するが、*Ping* は17のアクセッションにのみ存在することを明らかにした。また、*mPing* の挿入部位とコピー数はアクセッション間で大きく異なることを明らかにした。
3. 脱粒性を支配する主要なQTL (quantitative trait locus) である *qSH1* 周辺の塩基配列を用いて *O. rufipogon* の系統樹を作成し、本研究に供試した *O. rufipogon* が *mPing* のコピー数や *Ping* の有無とは無関係に3つのクラスターに分類されることを明らかにした。また、上記の結果と併せて、*mPing* ファミリートランスポゾンが *O. rufipogon* アクセッション間の共通の祖先種において形成され、その後、*Ping* のみがいくつかのアクセッションにおいてランダムドリフトや自然選択によって消失したと指摘した。
4. 供試したNERICA22系統のうち20系統において、*mPing* は活発に転移しており、切り出された *mPing* は遺伝子内部もしくはその近傍に挿入されやすいことを明らかにした。また、11のNERICA系統においては、*mPing* のみならず *Pong* も転移していることを明らかにした。
5. 以上の結果から、*mPing* ファミリートランスポゾンは、*O. sativa* のみならず、*O. rufipogon* の多様性にも大きく貢献していると結論した。また、*mPing* ファミリートランスポゾンは、種々の *Oryza* 種におけるトランスポゾンタギングにも有効であることを示した。

以上のように、本論文は、*Oryza* 属における各種MITEの分布を明らかにするとともに、*mPing* が *O. rufipogon* の多様性に大きく貢献していること、および *mPing* が *O. sativa* 以外の種においてもトランスポゾンタギングに有効であることを示したものであり、植物育種学のみならず、植物遺伝学、進化生物学および植物生理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21年2月16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。