

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

## 主論文の要旨

論文題目      Analysis of the function of a rice microRNA, *miR820*  
                    (イネのマイクロ RNA である *miR820* の機能解析)

氏名      野坂 実鈴

## 論文内容の要旨

多くの真核生物においてゲノムの主要な構成因子はゲノム寄生因子とも呼ばれるトランスポゾンなどの反復配列である。トランスポゾンの転移は挿入変異や染色体異常などゲノムにしばしば有害な変異を誘発する。このため、宿主ゲノムは小分子 RNA を介した RNA サイレncing の機構により大部分のトランスポゾンを不活性な状態で維持している。一方、トランスポゾンが不活性な状態で維持されるにも関わらず、真核生物においてゲノムの最も主要な構成因子はトランスポゾン由来の配列である。このことはトランスポゾンがサイレンシングを抑制あるいは回避する機構の存在することを意味するが、その実体は全く明らかにされていない。

主論文の第 1 章は、トランスポゾンと宿主の相互作用についてこれまでの知見を概説した。続く第 2 章において、イネのトランスポゾンが宿主による RNA サイレncing 機構を利用して自身の不活性化を回避する経路に関する解析を報告した。イネの microRNA(miRNA) の一種である *miR820* は CACTA 型 DNA トランスポゾンから産生され、DNA メチル基転移酵素遺伝子 *OsDRM2* を標的とする事が予想された。一般に DNA メチル基転移酵素による DNA のメチル化はトランスポゾンの不活性化に重要な働きがある。よって、*miR820* は DNA メチル基転移酵素遺伝子の発現抑制を介して自身の DNA メチル化を阻害し、トランスポゾンの不活性化を回避することができるという仮説を立て、その検証を行った。まず、トランスポゾンの内部から作られる *miR820* が DNA メチル基転移酵素遺伝子 *OsDRM2* の発現量の抑制を介してトランスポゾンの DNA メチル化を抑制する事を実験的に確かめた。次に、野生イネなどのイネ属において *miR820* による *OsDRM2* の制御が保存されているか明らかにするために野生イネの *miR820* と *OsDRM2* 遺伝子上の *miR820* 標的塩基配列を調べた結果、調べたすべてのイネ属において *miR820* による *OsDRM2* の制御は保存されていた。この過程で、野生イ

ネの一種である *Oryza punctata* においては *miR820* とその標的配列が両者の認識を維持するように共進化したことで、これらの系統において、*miR820* をもつ CACTA トランスポゾンが爆発的に増殖した事を明らかにした。このことは *miR820* がトランスポゾンの対宿主戦略をになう因子である事を示すとともに、*miR820* 制御がトランスポゾンだけでなく宿主の適応にも寄与する可能性を示した。

第 3 章では、*miR820* 前駆体の転写機構に関する解析を報告した。*miR820* は *MIR820* 遺伝子座より転写され生成される。*MIR820* はトランスポゾン内部に座乗するため、ユークロマチン領域に存在する通常の miRNA とは異なり、ヘテロクロマチン領域に存在する。そのため *MIR820* の転写機構は通常の miRNA とは異なる可能性が考えられた。本研究ではまず日本晴ゲノムの 5 つの *MIR820* のうち 7 番染色体に座乗する *MIR820* のみが転写されていることを明らかにした。7 番染色体の *MIR820* は他の 4 つの *MIR820* と比べて *miR820* コード領域のヒストンの修飾状態や DNA のメチル化程度が異なっていた。よって *miR820* は自身の遺伝子座の DNA のメチル化修飾を制御し、それに依存して *MIR820* の転写が起こると考えられる。このように、*miR820* は *cis* と *trans* の両方に作用する特別な miRNA であることを明らかにした。

第 4 章では、様々なイネ品種や野生イネを用いて、*miR820* を持つ CACTA トランスポゾンのコピー数と *miR820* の発現量に関する解析を行った。*MIR820* は *Oryza punctata* においてコピー数が増加し、18 コピー以上存在することが確認された。一方、この種では *miR820* が発現していない事が明らかになった。CACTA トランスポゾンの爆発的な増殖が CACTA トランスポゾンの不活性化と *miR820* の転写抑制を強く引き起こしたと考えられた。そこで *miR820* が発現していると考えられる栽培イネにおいて *miR820* を持つ CACTA トランスポゾンのコピー数を調べた。その結果、栽培イネ品種の中では *miR820* を持つ CACTA トランスポゾンのコピー数は最大で 11 コピーで、多くの品種は 5 コピー前後であった。また、これらの栽培品種において、*miR820* を持つ CACTA トランスポゾンのコピー数と *miR820* の発現量に明瞭な相関は見られなかった。この事から、CACTA トランスポゾンの転移には、*miR820* による *OsDRM2* の抑制に加えて、別の制御機構が働いていると結論づけた。

第 5 章において、第 2 章から第 4 章の実験結果をふまえて、全体を通じた考察を行った。本論文では、トランスポゾンを不活性化する宿主側の機構と不活性化を回避・抑制するトランスポゾン側の両方の機構が存在する事を明らかにする事ができた。これまでの多くの研究はトランスポゾンに対する宿主側の防御機構に焦点が当てられてきたが、本研究は寄生者であるトランスポゾン側の対宿主戦略に着目したこれまでにほとんど例の無い研究となった。本研究は、これら両機構の相互作用が宿主のゲノムの成り立ちに関わる事を明らかにした。