

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 野坂 実鈴

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)

### 論文審査担当者

主査	名古屋大学准教授	佐藤	豊
委員	名古屋大学教授	中園	幹生
委員	名古屋大学教授	北野	英己
委員	名古屋大学准教授	犬飼	義明

## 論文審査の結果の要旨

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 サイレンシング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。

野坂は審査会において、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後、イネのトランスポゾンが宿主による RNA サイレンシング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と、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。

続いて野坂は、*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。

さらに野坂は、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について報告した。*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。

最後に、全体を通じた考察を行った。本論文において、野坂はトランスポゾンの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した。

以上のように、野坂による研究は、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である。また、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ており、真核生物のゲノムの成り立ちと進化のメカニズムの解明に大きく貢献すると認められる。したがって審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位論文として十分な価値があると認め、論文審査に合格と判定した。