

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25292006

研究課題名(和文) 活性型転移因子がイネのエピゲノムにおよぼす効果の解明と育種への応用

研究課題名(英文) Effects of an active transposable element mPing on the rice epigenome and its application to plant breeding

研究代表者

築山 拓司 (TSUKIYAMA, Takuji)

近畿大学・農学部・准教授

研究者番号：00423004

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、イネ活性型転移因子mPingは、自身とその近傍配列をメチル化することで選択的スプライシングを誘導すること、mPingはメチル化されるものの、自律性因子PingのORF1がコードするMyb様タンパク質との結合が妨げられないこと、およびmPing転移を誘導するPingの時期・組織特異的発現は、Ping-ORF1に存在するSNPもしくはPingの位置・量的効果によって制御されていることが明らかとなった。これらの成果は、mPingは、宿主によるエピジェネティックな制御を回避することで、自身のコピー数を増やすとともに、宿主ゲノムに多様性を付与していることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：In this study, we found that (1) a rice active transposon mPing alters transcript structures post-transcriptionally via induction of alternative splicing that most likely depends on DNA methylation, (2) a Myb-like protein encoded by the autonomous element Ping can bind to mPing sequence independently of DNA methylation, and (3) early embryogenesis-specific expression of Ping may be regulated by a SNP in Ping-ORF1 or position- and dosage-effect of Ping. These indicate that mPing can amplify in the rice genome by escaping from the epigenetic regulation and consequently contributes to the enlargement of genetic variability of the host genome.

研究分野：植物育種学

キーワード：転移因子 イネ エピジェネティクス

## 1. 研究開始当初の背景

エピジェネティクス研究の進展に伴い、様々な生命現象がエピジェネティックに制御されていることが明らかになり、植物育種においてもエピジェネティックな制御機構を改変するエピゲノム育種法の開発が進められている。一方で、DNAのエピジェネティックな修飾は、トランスポゾンの転移抑制機構の一つとして古くから研究が進められている。

申請者らは、水稻品種「銀坊主」の線照射後代で得られた細粒突然変異系統 IM294 の易変性の解析過程において、動植物を通じて初めて転移活性をもつ MITE (miniature inverted-repeat transposable element)、*mPing* を同定した。*mPing* は、多くの品種においてコピー数が少なく、不活性化されているが、銀坊主においては1,000コピー以上存在するにも関わらず、今なお活発に転移・増殖している。このことから、申請者らは、銀坊主における *mPing* の転移機構を明らかにすることは、MITE がゲノム中でどのようにして増殖し、どのようにして進化を牽引するかを理解する重要な手がかりとなると考え、様々な解析を行ってきた。これまでの研究から、

*mPing* は、他の転移因子と同様に高度にメチル化されているにもかかわらず、イネゲノム内では近傍遺伝子にストレス応答性を付与する、*mPing* は宿主による DNA メチル化の標的になり得るものの、DNA メチル化のみによって不活性化されない、および IM294 の *Rurm1* (*Rice ubiquitin-related modifier-1*) 機能喪失アレルは、メチル化程度を改変せず、*mPing* 転移に起因する遺伝的多様性を拡大することが明らかとなっている。これらの知見から、*mPing* は、遺伝子やプロモーター領域の塩基配列だけでなく、ゲノムのエピジェネティックな状態(エピゲノム)を改変することでゲノムの多様性拡大に貢献していると考えられた。

## 2. 研究の目的

本研究は、イネ活性型転移因子 *mPing* が宿主ゲノムのエピジェネティックな状態(エピゲノム)におよぼす効果を解析するとともに、*mPing* の転移と宿主のエピジェネティックな制御の関係を解明することで、転移因子を用いたエピゲノム育種を提案しようとするものである。計画した研究項目は、*mPing* 挿入が宿主のエピゲノム状態におよぼす効果の解明、*mPing* のメチル化に起因するエピアレルの同定、および *mPing* が宿主のエピジェネティックな制御機構を回避する機構の解明の3つである。

## 3. 研究の方法

(1) *mPing* 内部および近傍配列のメチル化程度の大規模解析

*mPing* 特異的に改良した Post-bisulfite Adaptor Tagging (PBAT)法を用いて、*mPing*

とその近傍配列のみからなるライブラリーを調製した。改良した PBAT 法では、まず、銀坊主の葉身から抽出したゲノム DNA を EZ DNA Methylation-Gold Kit を用いてバイサルファイト処理を行い、ピオチンを付加した4種類の *mPing* 特異的プライマーを用いて第1鎖の合成を行った。次いで、ストレプトアビジンビーズを用いて精製した第1鎖を鋳型として、インデックス配列とアダプター配列を付加したランダムプライマーを用いて第2鎖を合成し、*mPing* 特異的ライブラリーとした。次世代シーケンサーHi-seq2000を用いて、得られたライブラリーのメチル化状態を網羅的に解析した。本解析は、文部科学省科学研究費 新学術領域研究「ゲノム支援」の支援によって実施した。

(2) *mPing* 挿入を有する遺伝子の転写産物の構造解析

早生突然変異系統 HS110、細粒突然変異系統 IM294、および晩生突然変異系統 HS169 を供試した。これら全ての系統は、銀坊主に由来する突然変異体であり、*mPing* の挿入によって原因遺伝子の機能を喪失している(それぞれ *hd1*、*rurm1* および *ehd1*)。播種後30日の HS110、IM294 および HS169 の葉身から RNA を抽出し、AMV Reverse Transcriptase XL を用いて cDNA を合成した。各系統の原因遺伝子に特異的なプライマーを用いて 3' -RACE (3' -rapid amplification of cDNA ends) を行い、得られた増幅産物を pGEM-T にクローニングした。クローニングされた 3' -RACE 産物の配列をシーケンスし、NCBI (National Center for Biotechnology Information) の ORF Finder を用いてその構造を解析した。

HS110 の葉身から抽出したゲノム DNA を EZ DNA Methylation-Gold Kit を用いてバイサルファイト処理を行った。HS110 の原因遺伝子 *hd1* に特異的なプライマーを用いて PCR を行い、得られた増幅産物を pGEM-T にクローニングした。シーケンス解析した後、得られた配列情報を Kismeth Bisulfite Analysis プログラムに供試し、*hd1* に挿入された *mPing* とその近傍配列のメチル化程度を解析した。

(3) *Ping* がコードする Myb 様タンパク質 (PiMyb) および転移酵素 (PiTP) と *mPing* との結合能

*Ping* ORF1 および ORF2 の cDNA を maltose-binding protein (MBP) 融合タンパク質発現用ベクター pMAL c2x にクローニングし、pMAL-Myb および pMAL-TP を作製した。これら大腸菌株 BL21 に導入し、MBP 融合 Myb 様タンパク質 (MBP-PiMyb) および MBP 融合転移酵素 (MBP-PiTP) を発現・アフィニティー精製した後、ゲルシフトアッセイに供試した。

ゲルシフトアッセイでは、LightShift Chemiluminescent EMSA Kit を用い、MBP-PiMyb および MBP-PiTP と *mPing* との結合能を解析した。また、断片化した *mPing* およ

びシトシンをメチル化した *mPing* を用いることで、結合配列およびメチル化による結合能の変化を調査した。また、*in vitro* で *mPing* の切り出しを解析するために、*mPing* の部分的配列を用いた切り出しアッセイを行った。

#### (4) 不活性型 *mPing* が転移する突然変異体のスクリーニング

銀坊主ゲノムにおいては、元の挿入位置から切り出される活性型と切り出されない不活性型の *mPing* が存在する。銀坊主種子約 3000 粒にガンマ線を照射し、 $M_1$  集団を作出した。 $M_1$  個体から穂別  $M_2$  系統 384 系統 (各系統 8 個体、合計 1920 個体) を育成した。 $M_2$  系統 8 個体の葉身を 1 サンプルとして DNA を抽出し、不活性型 *mPing* 特異的なプライマーを用いて PCR を行った。PCR によって不活性型 *mPing* の切り出しが確認できた個体は、銀坊主特異的な *Ping* に設計したプライマーを用いて外部交配の有無を調査した。

#### (5) *mPing* に由来する新規 MITE・*smPing* の転移解析

*smPing* (*smPing* については研究成果で後述) を有するイネ系統 SIM2 を供試した。播種 2 週間後に第 3 葉を 8 個体バルクでサンプリングし、DNA を抽出した。1491 個体の SIM2 から抽出したゲノム DNA を鋳型として、*smPing* を挟み込むプライマーを用いて PCR を行い、*smPing* の切り出し個体の有無を調査した。トランスポゾンディスプレイ (TD) 法により、SIM2 ゲノムにおける *smPing* の転移およびコピー数を調査した。また、*smPing* および *smPing* の欠損配列と各組み換えタンパク質の結合をゲルシフトアッセイにより解析した。

## 4. 研究成果

### (1) *mPing* 内部および近傍配列のメチル化程度の大規模解析

イネ品種銀坊主は 1,000 コピー以上の *mPing* を有している。*mPing* のメチル化程度はコピー間で異なることから、*mPing* のメチル化を解析する際には、1,000 コピー以上の挿入位置を明確に区別する必要がある。特定のゲノム領域のメチル化解析にはバイサルファイトシーケンス法 (BS 法) が広く用いられているが、BS 法では多数のゲノム領域の解析に膨大な時間を要する。本研究では、改良した Post-bisulfite Adaptor Tagging (PBAT) 法で *mPing* 配列特異的なライブラリーを作成し、HiSeq 2000 を用いてコピー間のメチル化状態の網羅的解析を試みた。

改良した PBAT 法で得られたライブラリーをシーケンスした結果、総リード数 146,467,644 のシーケンスデータを得た。これらのリードをバイサルファイトシーケンス解析ツール Bismark によって *mPing* 配列およびイネゲノムにマッピングしたところ、46,180 リード (0.03%) が *mPing* 配列にマッピ

ングされた。これらのうち、5,652 リード (0.004%) が *mPing* 挿入位置の決定に用いることができた。*mPing* は、品種銀坊主において、1,000 コピー以上存在することが知られている。本研究において、106 箇所 の *mPing* 挿入を同定し、これらのうち 21 箇所 の *mPing* のメチル化程度を解析できた。その結果、*mPing* 内部のシトシンの平均メチル化程度は、CG、CHG および CHH サイトにおいてそれぞれ 95%、58% および 31% であることが明らかになった。本研究では、ライブラリーの調整が不十分であったため、挿入位置を決定できたコピーが少なく、コピー間のメチル化程度を十分に比較・解析することができなかった。しかし、活性型 *mPing* (転移がみられるコピー) では、サイト特異的なメチル化の低下がみられたことから、特定のシトシン残基が転移活性に関与している可能性があるのではないかと考えられた。

本研究の成果は、「5. 主な発表論文等」の [学会発表] (3) として、日本育種学会第 126 回講演会において発表した。

### (2) *mPing* の挿入が遺伝子の転写産物の構造に及ぼす効果

近年、オルタナティブスプライシング (AS) が DNA メチル化やヒストン修飾によって制御されていることが知られている。*mPing* は宿主によるメチル化の対象となることから、本年度は *mPing* 挿入を有する遺伝子の転写産物の構造とメチル化程度を解析した。まず、*mPing* が出穂期関連遺伝子 *Hd1* の第 2 イントロンに挿入された早生突然変異系統 HS110 では、正常型の転写産物 (*hd1-s1*) に加え、AS によって 2 つの転写産物 (*hd1-s2*, *-s3*) が生じていた。*hd1-s2* はイントロンと *mPing* の一部を含んでおり、*hd1-s3* では *mPing* 内部で選択的ポリ A 化 (APA) が生じていた。このことから、イントロンに挿入された *mPing* は、スプライス部位の選択を変えるとともに、APA を誘発することが明らかになった。次に、ユビキチン様タンパク質遺伝子 *Rurm1* の第 4 エキソンおよび出穂期関連遺伝子 *Ehd1* の第 2 エキソンにそれぞれ *mPing* 挿入を有する細粒突然変異系統 IM294 および晩生突然変異系統 HS169 を用いて同様の実験を行った。その結果、正常型の転写産物 (*rurm1-s1* および *ehd1-s1*) に加え、IM294 では *mPing* 内部で APA が生じた 2 つの転写産物 (*rurm1-s2*, *-s3*) とイントロンがエキソン化した転写産物 (*rurm1-s4*) が、HS169 では *mPing* を含む第 2 エキシソンの一部もしくは全体が欠失 (エキソンスキッピング) した転写産物 (それぞれ *ehd1-s2*, *-s3*) が生じていた。これらのことから、イントロンに挿入された *mPing* およびエキソンに挿入された *mPing* は両者ともに AS および APA を誘発することが明らかとなった。DNA のメチル化程度が高い領域がエキソンとして認識されることが報告されている。*Hd1* と *hd1* のメチル化程度を BS 法で解析した

結果、*Hd1* と比較して、*hd1* では *hd1-s2* と *hd1-s3* においてエキソン化していた *mPing* 配列およびその 5' 側の隣接配列のメチル化程度が増加していた。このことから、*mPing* が誘発する AS には DNA のメチル化が影響していることが示唆された。

RNA-seq によって銀坊主ゲノム中で *mPing* による AS が生じている遺伝子を網羅的に調査した。その結果、同一親に由来する 3 個体共通で *mPing* 挿入を有する 90 個の遺伝子のうち 83 個の遺伝子で転写産物が検出でき、21 個で *mPing* 挿入が原因であると考えられる AS および APA が観察された。*mPing* 挿入があるにもかかわらず AS および APA が観察されなかった遺伝子が数多く存在したことは、*mPing* 挿入位置の違いや DNA のメチル化状態の違いによるものではないかと考えられた。

本研究の成果は、「5. 主な発表論文等」の〔雑誌論文〕(1)として、Molecular Breeding 誌に発表した。

### (3) DNA メチル化が自律性転移因子 *Ping* の結合能におよぼす効果

これまでの研究から、*mPing* は DNA メチル化だけでは不活化されないことが明らかになっている。*mPing* の転移には自律性転移因子 *Ping* の ORF1 および ORF2 がそれぞれコードする Myb 様タンパク質 (PiMyb) および転移酵素 (PiTP) が必要であるが、それらのタンパク質がメチル化した *mPing* の転移にどのように関与しているかは未解明である。そこで、MBP をタグとする大腸菌組換えタンパク質発現系を用いて MBP-PiMyb および MBP-PiTP を精製し、ゲルシフトアッセイによってそれらタンパク質の *mPing* に対する結合能を調査した。その結果、*mPing* が転移する際は、PiTP ではなく、PiMyb が *mPing* 配列に直接結合することが明らかになった。次に、断片化した *mPing* 配列を用いて、*mPing* 内の PiMyb 結合配列を調査した。*mPing* 全長を 3 分割した配列をプローブに用いたところ、*mPing* の 5' 末端側 (1-156 bp) および 3' 末端側 (251-430 bp) においてバンドの遅延が観察された。このことは、多くの自律性転移因子において、転移関連タンパク質の結合配列が転移因子の末端反復配列付近にあることと一致する。

*mPing* の転移には PiMyb と PiTP の両方が必要であることから、MBP-PiMyb と MBP-PiTP の両方を加えてゲルシフトアッセイを行った。その結果、*mPing* の切り出しを示すバンドを検出することができた。しかし、安定的にバンドを検出することができなかったことから、*mPing* の切り出しを *in vitro* で解析するためには実験条件の最適化が必要であると考えられた。

メチル化した *mPing* に対する PiMyb の結合を調査したところ、メチル化していない *mPing* と比較して、バンドの移動度に差異は観察されなかったことから、PiMyb と *mPing* の結合はメチル化によって阻害されないこ

とが明らかになった。これらのことから、*mPing* は宿主によってメチル化されるものの、PiMyb との結合が妨げられないことがコピー数増加の一因であると考えられた。このことは、前述の活性型 *mPing* の中でもメチル化程度が高いものが存在したことと一致する。

本研究の成果は、「5. 主な発表論文等」の〔学会発表〕(2)として、日本育種学会第 129 回講演会において発表した。

### (4) *mPing* の転移活性を制御する因子の探索

*mPing* を用いたエピゲノム育種を効率よく行うためには、*mPing* の転移機構を明らかにする必要がある。*mPing* は銀坊主において高い転移活性を示す。これまでに、個体発生過程における *mPing* の転移時期を解析した結果、ほとんどの *mPing* は胚発生初期 (受精後 3 日目から 5 日目) に時期・組織特異的な *Ping* の発現上昇を伴って転移していた。一方、*mPing* の転移を示さない日本晴では、このような発現上昇はみられなかった。このことから、*mPing* の転移は時期・組織特異的な *Ping* の発現によって制御すると考えられた (築山・基盤 (B) H21-24、課題番号: 21380004)。銀坊主に加えて、農業生物資源ゾーンバンクに登録されている愛国系品種および銀坊主系品種 (以降、AG 系統) の中でも *mPing* 転移活性を示す品種が存在することが知られている。そこで、本研究では、*mPing* の転移活性を示す AG 系統 2 系統 (A119、A123) および示さない系統 (A105、G190) を銀坊主および日本晴と比較し、*mPing* の転移活性を制御する因子の探索を試みた。

*mPing* の転移活性を示す 2 系統 (A119、A123) および示さない 2 系統 (A105、G190) の胚発生初期における *Ping* の発現を調査したところ、A119 および A123 は銀坊主と同様に時期・組織特異的な *Ping* の発現上昇を示した。一方、A105 および G190 では、そのような発現上昇はみられなかった。銀坊主および日本晴の *Ping* をシークエンスしたところ、*Ping*-ORF1 の第 1 イントロンに 1 つの SNP が認められた。この SNP は、銀坊主が C、日本晴が T であったことから、前者を C タイプ *Ping*、後者を T タイプ *Ping* とした。供試品種・系統の *Ping* の SNP を解析した結果、銀坊主、A119 および A123 は C タイプ *Ping* のみを、日本晴、A105 および G190 は T タイプ *Ping* のみを有していたことから、*Ping* の時期・組織特異的な発現上昇はこの SNP に起因するのではないかと考えられた。

サザンハイブリダイゼーション法を用いて、各品種・系統の *Ping* のコピー数を調査した。その結果、日本晴、A105 および G190 は T タイプ *Ping* を 1 コピーのみ保有しており、銀坊主、A119 および A123 は C タイプ *Ping* をそれぞれ 7、6 および 10 コピー保有していた。SNP と同様に、*Ping* の座乗位置およびコピー数の違いによる発現パターンの変化 (位置・量的効果) も *mPing* の転移活性を制御す

るのではないかと考えられた。

本研究の成果は、科研費 21380004 の成果と併せて、「5. 主な発表論文等」の〔雑誌論文〕(4)として、PLOS Genetics 誌に発表した。

#### (5) 不活性型 *mPing* が転移する突然変異体 EM334 の同定

銀坊主ゲノムにおいては、活性型と不活性型の *mPing* が存在する。不活性型 *mPing* が転移する突然変異体が得られれば、宿主が *mPing* を不活化する遺伝的要因が単離できると期待される。そこで、銀坊主の種子約 3000 粒にヒートショック照射法によって 600Gy のガンマ線を照射した。不活性型 *mPing* を挟み込むように設計したプライマーを用いた PCR によって 384 系統 (合計 1920 個体) の  $M_2$  を一次スクリーニングした結果、25 系統で不活性型 *mPing* の転移を示すバンドが検出された。次いで、同様の方法で、系統内の各個体の二次スクリーニングを行い、得られた候補個体の外部交配の有無を銀坊主の *Ping* 特異的なプライマーを用いた PCR によって調査した。その結果、ほとんどの候補個体は外部交配によって生じたものであったが、不活性型 *mPing* が転移した突然変異個体を 1 個体のみ得ることができた。そこで、この個体を *mPing* 高転移突然変異体 EM334 (Excision of *mPing*-334) と名付けた。

EM334 の  $M_3$  における *mPing* の切出しを調査したところ、メチル化程度とは無関係に多くの挿入箇所から *mPing* が切り出されていることが明らかになった。このことから、EM334 は、原品種銀坊主よりも *mPing* 転移活性が高い突然変異体であり、銀坊主ゲノムにおいて活性型と不活性型の *mPing* を区別している機構を解析する良い材料であると考えられた。

#### (6) *mPing* に由来する新規 MITE・*smPing* の同定とその転移の解析

ユビキチン様タンパク質をコードする *Rurm1* を機能喪失した突然変異系統 IM294 において *mPing* は、メチル化の変化を伴わず、活発に転移している。また、IM294 は、その自殖後代において *mPing* の爆発的に起因する強勢突然変異体 (原品種よりも旺盛に生育する変異体) を生じる。これらのことから、IM294 の *Rurm1* 機能喪失アレルは、*mPing* 転移に起因する遺伝的多様性の拡大に有効であると考えられる。

IM294 の自殖後代において強勢突然変異体が生じる際、*Rurm1* に挿入された *mPing* が転移し、*Rurm1* の機能が復帰する。IM294 の自殖後代における種々の突然変異体を探索している過程で、転移因子の転移に必要な不可欠な TIR (terminal inverted repeat) を含む *mPing* の両末端配列をもちながらも、内部配列 289bp が欠損した *smPing* (small-*mPing*、全長 132bp) を *Rurm1* 座に有する IM294 後代系統 SIM2 を同定した。*smPing* 特異的プライマ

ーを用いた PCR と TD 法によって *smPing* の転移を調査したところ、*smPing* はイネ植物体において転移活性を失っていることが明らかになった。ゲルシフトアッセイにより、PiMyb は、*mPing* のみならず、*smPing* および *smPing* の欠損配列のいずれにも結合することが明らかになった。PiMyb が *smPing* の欠損配列にも結合したことから、*smPing* では PiMyb との結合能が低下していることが不活性化の原因の 1 つであると考えられるが、不活性の詳細を明らかにすることはできなかった。*mPing* が属する MITE は、サイズを小さくすることでコピー数を増やしてきたと考えられてきた。しかし、*mPing* の内部配列の欠損により生じた *smPing* は転移せず、コピー数も増加していなかった。このことは、MITE のコピー数増加には、サイズの縮小化以外の要因があることを示唆している。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

(1) Kum R, Tsukiyama T (Corresponding author), Inagaki H, Saito H, Teraishi M, Okumoto Y, Tanisaka T. The active miniature inverted-repeat transposable element *mPing* posttranscriptionally produces new transcriptional variants in the rice genome. Mol. Breed. 査読有. 2015, 35: 159-  
DOI: 10.1007/s11032-015-0353-y

(2) 河西恵、築山拓司 (責任著者)、寺石政義、奥本裕、谷坂隆俊. イネユビキチン様タンパク質遺伝子 *Rrum1* がメチルビオロゲンによって誘導される酸化ストレス応答におよぼす効果. 作物研究. 査読有. 2015, 60: 55-57.  
DOI: [http://doi.org/10.18964/jcr.60.0\\_55](http://doi.org/10.18964/jcr.60.0_55)

(3) 金澤章、深井英吾、宮尾安藝雄、佐瀬英俊、築山拓司. トランスポゾンによる変異創成とその育種への応用. 育種学研究. 査読無. 2015, 17: 77-87.  
DOI: <http://doi.org/10.1270/jsbbr.17.77>

(4) Teramoto S, Tsukiyama T (Corresponding author), Okumoto Y, Tanisaka T. Early embryogenesis-specific expression of the rice transposon *Ping* enhances amplification of the MITE *mPing*. PLOS Genetics. 査読有. 2013, in print  
DOI: 10.1093/mp/sst042

(5) Hamamoto Y, Tsukiyama T (Corresponding author), Yoshitake Y, Teraishi M, Okumoto Y, Tanisaka T. Transient dual-luciferase assay combined with a

glucocorticoid-inducible system for rice protoplasts. Biosci. Biotechnol. Biochem. 査読有. 2013, 77: 2480-2482.  
DOI: 10.1271/bbb.130480

〔学会発表〕(計7件)

(1) 築山拓司、琴梨世、稲垣晴香、齋藤大樹、寺石政義、奥本裕、谷坂隆俊、イネゲノムにおける転移因子を介した選択的スプライシング、イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ2016、2016年7月5日、名古屋大学(愛知県名古屋市)

(2) 築山拓司、小野原一暢、田中幹也、齋藤大樹、奥本裕、寺石政義、井上國世、谷坂隆俊、DNAメチル化がイネ自律性転移因子 *Ping* の結合能におよぼす効果、日本育種学会第129回講演会、2016年3月21日、横浜市立大学(神奈川県横浜市)

(3) 築山拓司、活性型トランスポゾンを利用した新しい育種法の開発、日本育種学会第126回講演会、2014年9月26日、南九州大学(宮崎県都城市)

(4) 寺本翔太、築山拓司、谷坂隆俊、奥本裕、イネトランスポゾン *mPing* の転移活性を制御する因子の探索、日本育種学会第126回講演会、2014年9月27日、南九州大学(宮崎県都城市)

(5) Tsukiyama T, Teramoto S, Yasuda K, Horibata A, Mori N, Okumoto Y, Teraishi M, Saito H, Onishi A, Tamura K, Tanisaka T. Loss-of-function of an ubiquitin-related modifier RURM1 promotes the mobilization of the active MITE *mPing*. 7th International Rice Genetic Symposium, 7 November 2013, Manila, Philippines

(6) 寺本翔太、築山拓司、寺石政義、谷坂隆俊、奥本裕、イネ品種銀坊主における *mPing* 転移は時期・組織特異的な *Ping* の発現上昇を伴う、日本育種学会第124回講演会、2013年10月12日、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

(7) 濱本有希、築山拓司、清水顕史、寺石政義、谷坂隆俊、奥本裕、イネ RURM1 による tRNA の硫黄修飾を介したタンパク質翻訳効率の制御、日本育種学会第124回講演会、2013年10月12日、鹿児島大学(鹿児島県鹿児島市)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

築山 拓司 (TSUKIYAMA, Takuji)

近畿大学・農学部・准教授

研究者番号：00423004

### (2) 研究分担者

奥本 裕 (OKUMOTO, Yutaka)

京都大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：90152438

寺石 政義 (TERAISHI, Masayoshi)

京都大学・大学院農学研究科・講師

研究者番号：80378819

齋藤 大樹 (SAITO, Hiroki)

京都大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：10536238