

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 3 日現在

機関番号：63904

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010 ~ 2011

課題番号：22780007

研究課題名（和文） DNAトランスポゾンをトランスに抑制する因子の同定と応用

研究課題名（英文） A transposon suppressor Dart-cancellor in wild rice

研究代表者

梅根 一夫 (Tsugane Kazuo)

基礎生物学研究所・多様性生物学研究室・助教

研究者番号：50343744

研究成果の概要（和文）：イネゲノム中で 35%を占めるトランスポゾンの多くは不活化されているが、我々は内在性で活発に転移する DNA トランスポゾン *nDart1* を同定して解析してきた。*nDart1* の転移には自律性因子 *aDart1-27* が必要であるが、通常のコシヒカリ系統では DNA のメチル化によってエピジェネティックに抑制されている。アフリカの野生イネゲノム中に、*nDart1* の転移を抑制する因子が存在することを見いだした。抑制因子は *aDart1* の転移酵素の転写を転写後に制御している事を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

Whole rice genome, which transposon content is 35 %, was sequenced with high accuracy and informative for transposon research. An active rice transposon *nDart1-0* element was identified as a causative element for the mutable *virescent* line that shows green sectors in the *virescent* yellow leaves. The transposition of nonautonomous *nDart1-0* element requires transposase supplied from an autonomous *aDart1-27* element. An introduced *aDart1-27* element from other variety by crossing has kept the active state. However, a hybrid line obtained by interspecific cross between an African wild rice species, *Oryza longistaminata*, and a *mutable virescent* line showed the only green leaf phenotype even though it carried both the *nDart1-0* and *aDart1-27* elements. Genetic analysis indicated the inhibition of *nDart1-0* transposition was caused by a factor derived from *Oryza longistaminata*. It was revealed that the inhibitory factor regulated transposase mRNA in a posttranscriptional manner.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農学・育種学

キーワード：植物分子育種

1. 研究開始当初の背景

イネのゲノム中に多く存在するDNA トランスポゾンのうち、転移できる因子は限られている。例外的に自然栽培条件下で活発に転移し続けるDNA トランスポゾン*nDart1-0* は非自律性なので、転移に必要な転移酵素は、自律性因子*aDart1-27* から供給されるが、そのmRNA は限られた系統においてのみ発現でき、世代を越えても通常は低下しない。しかしながら、アフリカの野生イネゲノム中に、転移酵素のmRNA を消失させ*nDart1-0* の転移を抑制する優性の因子が存在することを見いだした。

2. 研究の目的

抑制因子は、1 因子であったので、同定し抑制機構の解明に取り組む。予備的な知見では抑制因子は、新規の抑制機構をもっている可能性が高い。抑制機構の解明と改変をおこない、DNAトランスポゾン的人為的に制御することによって、イネの遺伝子機能解析に貢献することを目指す。

3. 研究の方法

(1)Dac の同定

ポジショナルクローニングにより候補領域を狭めた後に、Dac の構造を決定する。

(2)Dac によるトランスポゾンの抑制の仕組みの解明

Dac によるトランスポゼースmRNA の消失は、転写抑制なのか、転写後抑制なのかを明らかにする。

4. 研究成果

(1)Dacの同定

Dacが1因子であることを確認したので、ポジショナルクローニングを試みて、200 kbの領域に候補領域を特定できた。Dac候補領域の予備的な解析では、イネのリファレンス配列の日本晴と比較して多くのレトロトランスポゾンの挿入が確認されたが、*Oryza longistaminata*の全ゲノム配列の解析を試みて、Dacの同定を進めることにした。Dacは*aDart*と短い相同性配列をもつケースを想定して、予備的な解析では*nDart/aDart*類似配列の検出を行った。その結果hATファミリーの属するトランスポゾンの転移酵素を同定できたので、Dacとの関連を明らかにする予定である。

(2)Dacによる*nDart/aDart*システムの抑制機構の解析

Dac存在下で*nDart1-0*の脱離が抑制されているときには、*aDart*からの転移酵素トランスポゼースのmRNAの検出ができなかった。即ちDacによる*nDart1-0*の転移の抑制は、転移に必要な末端反復配列やサブターミナル領域へのトランスポゼースのアクセスの抑制ではなく、トランスポゼースタンパク質の消失が原因である。そこで Run On実験により、DacによるトランスポゼースmRNAの消失が転写の抑制なのか、転写後抑制なのかを調べたところ、転写後の抑制であることがあきらかになった。これは唯一同定されているトランスポゾンの抑制因子のMu Killerとは異なった新規の抑制機構をもっていることを示している。Dacの抑制は、分離した次世代ですぐに解除されているので、*aDart*をメチル化などで抑制していない可能性が高いことも示された。そこでDacの全体像を解明するために、Dacの同定に集中して解析を行うこととした。

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. Eun C. -H., Takagi' K., Park, K. I., Maekawa, M, Iida, S. Tsugane, K. (2012) Activation and Epigenetic Regulation of DNA Transposon *nDart1* in Rice. *Plant Cell Physiol.* 53, 857-868, 査読有
doi: 10.1093/pcp/pcs060.
- ②. Saze, H., Tsugane, K., Kanno, T. and Nishimura, T. (2012) DNA methylation in plants: Relationship with small RNAs and histone modifications, and functions in transposon inactivation. *Plant Cell Physiol.* 53, 766-784, 査読有, doi: 10.1093/pcp/pcs008.
- ③. Hayashi-Tsugane, M., Maekawa, M., Qian, Q., Kobayashi H., Iida, S. and Tsugane, K. (2011) Examination of transpositional activity of *nDart1* at different stages of rice development. *Genes Genet Syst.*, 86, 215-219 査読有
- ④. Hayashi-Tsugane, M., Maekawa, M., Kobayashi H., Iida, S. and Tsugane, K. (2011) A rice mutant displaying a

heterochronically elongated internode carries a 100 kb deletion.

J. Genet. Genomics, 38, 123-128, 査読有,
doi:
10.1016/j.jgg.2011.02.004.

- ⑤. Takagi' K., Maekawa M., Tsugane K., Iida S. (2010) Transposition and target preferences of an active nonautonomous DNA transposon *nDart1* and its relatives belonging to the *hAT* superfamily in rice. *Mol Genet Genomics*, 284, 343-355, 査読有,
doi:
10.1007/s00438-010-0569-9.

[学会発表] (計 4 件)

- ①. Kazuo Tsugane, HIdeki Nishimura, Mika Hayashi-Tsugane, Shigeru Iida, Maekawa Masahiko **A transposon suppressor Dart-canceller in the wild rice** 54回日本植物生理学会年会、2013年3月21日-23日、岡山大学
- ②. Mika Hayashi-Tsugane, Hiroyuki Takahara, Nisar, Ahmed, Eiko Himi, Kyoko Takagi, Shigeru Iida, Maekawa Masahiko, Kazuo Tsugane, Identification of the transposon-tagged gene essential for chloroplast biogenesis in rice 54回日本植物生理学会年会、2013年3月21日-23日、岡山大学
- ③. 榎根一夫、ウンチャンホ、高木恭子、榎根美佳、飯田滋、前川雅彦、イネ内在性DNAトランスポゾン*nDart*のエピジェネティックな転移活性の制御、122回日本育種学会講演会、京都産業大学、2012年10月12日-13日

- ④. 梅根一夫、梅根美佳、飯田滋、前川雅彦
野生イネゲノム中の栽培イネトランス
ポゾンを抑制する新規因子、日本遺伝学
会第84回大会、2012年9月24日-26日九州
大学医学部

[図書] (計 1件)

- ①. Maekawa M, Tsugane K, Iida S
(2011) Effective contribution
of the *nDart*
transposon-tagging system to
rice functional genomics. Adv
Genet Res 4, 259-272

[その他]

ホームページ等

<http://www.nibb.ac.jp/dart/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

梅根一夫 (Tsugane Kazuo)
基礎生物学研究所・多様性生物学研究
室・助教
研究者番号 : 50343744

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :