

# ダイズのレトロトランスポゾン *SORE-1* の転写制御と転移に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 土屋真弓

## 1. はじめに

トランスポズンはゲノム上を動く転移因子であり、植物においては放射線や化学変異原と並ぶ有用な突然変異の誘発源であると考えられている。ダイズにおいては、北海道における栽培ダイズで日長不感受性により早く開花する TK780 系統では、ゲノム中に複数存在する *phytochrome A* (*phyA*) 遺伝子のうちの一つである *GmphyA2* 遺伝子が、LTR 型レトロトランスポゾン *SORE-1* の挿入により機能を失っていることが明らかになっている (Liu et al., 2008; Kanazawa et al., 2009)。しかしながら、一般にトランスポゾンの転移は、エピジェネティックな機構により強く抑制されている。そのため、このような抑制が解除され、転移が活発になる条件を明らかにすることは、育種材料や遺伝子解析に有用な変異体の作出につながるものと期待される。本研究では、*SORE-1* の転写制御と転移に関して解析を行った。

## 2. 材料

転写開始点・終結点の解析には、ダイズの準同質遺伝子系統で *GmphyA2* 遺伝子に *SORE-1* が挿入されている I 系統と挿入されていない S 系統を供試した。プロモーター活性解析には、ダイズの I 系統および long terminal repeat (LTR)- $\beta$ -glucuronidase (GUS) コンストラクトを導入した形質転換シロイヌナズナを供試した。*SORE-1* の転移解析には、*GmphyA2* 遺伝子中に *SORE-1* の挿入が起きており、かつ 191 の SNP を用いた多型解析では差異がみられない、遺伝的に近縁な北海道在来ダイズ(大谷地系)とその遠縁系統を用いた。

## 3. 結果と考察

①転写開始点・終結点の解析 転写開始点は、5' LTR 内とその下流に同定された。また、主な転写終結点は 3' LTR 内に同定され、それに加え、3' LTR の下流まで伸長した転写産物が検出された。5' LTR と 3' LTR で転写されている領域の間に共通な部分が存在したことから、これまで他のレトロトランスポゾンに関して提唱されてきた様式により *SORE-1* が転移できる可能性が示唆された。

②プロモーター活性解析 qPCR による解析の結果、I 系統における *SORE-1* の転写量は、葉と比べて、つぼみで高かった。転写量は胚発生の過程で減少した。形質転換シロイヌナズナにおけるプロモーター活性は、開花日前後で顕著に観察され、胚の一部で特に高かった。また、低温や乾燥ストレスを与えることで、活性がやや高くなった。LTR 内には低温や乾燥に応答するシス因子の候補配列が同定されており、*SORE-1* の転写量はプロモーター内に存在する転写因子による制御を大きく受けていることが示唆された。

③転移解析 大谷地系を含むダイズ系統を用いてサザン解析を行ったところ、系統間に *SORE-1* の挿入の違いに基づく多型は検出されなかった。このことから、品種分化過程における *SORE-1* の転移は頻繁には起きていない、もしくは新規に転移した *SORE-1* の多くがゲノムから失われたことが示唆された。一方、多型の検出感度が高いトランスポゾンディスプレイ解析を行った結果、遺伝子領域への *SORE-1* の挿入が確認された。さらに、挿入が確認された遺伝子に関する詳細な解析から、挿入は系統に特異的に起きていることが明らかになった。これらのことから、*SORE-1* は *GmphyA2* への転移が起こった後も、北海道においてダイズ系統が分化し始めてから現在までの間に遺伝子領域内への転移を起こしたと推察された。

## 4. 結論

本研究を通して、*SORE-1* の転写様式を明らかにするとともに、*SORE-1* が活性化する組織を見出した。さらに、大谷地系のダイズが分化した 100 年以内に *SORE-1* の転移が起きたことを見出した。本研究は、ダイズにおいて *SORE-1* を用いた、育種材料や遺伝子解析に有用な、新規の変異体の作出に寄与するものと考えられる。