



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Novel inactivation mechanisms of transposon uncovered by the Old and New Stabiliser loci in Tam3 system of Antirrhinum
Author(s)	Wang, Shasha
Description	この博士論文の全文は利用可能日以降に公開されます。利用可能日以前の閲覧方法は https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/ をご参照ください。
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第16586号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16586
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98196
Type	doctoral thesis
File Information	WANG_Shasha_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博 士（農学）

氏名 Wang Shasha

審査担当者	主 査	教 授	貴 島 祐 治
	副 査	教 授	金 澤 章
	副 査	教 授	志 村 華 子

学 位 論 文 題 名

Novel inactivation mechanisms of transposon uncovered by the *Old* and *New Stabiliser* loci in Tam3 system of *Antirrhinum*

(キングヨソウの Tam3 システムにおける *Old Stabiliser* と *New Stabiliser* 遺伝子座による新規のトランスポゾン抑制機構)

本論文は英文 126 頁、図 40、表 0、4 章からなり、参考論文 2 編が付されている。

Antirrhinum majus は、斑入りや形態的キメラとして現れる偶発的な不安定性を示すことが知られている。1980 年代から 1990 年代にかけて、*Antirrhinum* の花の色、形態、クロロフィルなどの変化を引き起こすトランスポゾン誘発変異体が複数同定された。これらの変異体の中で、Tam3 (*A. majus* の 3 番目のトランスポゾン) は、変異体に関連する遺伝子発見の大部分と関連している。Tam3 は hAT スーパーファミリー (Ac、hobo、Tam3) に属し、低温 (約 15°C) で転移するが、高温 (約 25°C) では転移しない低温依存性転移 (LTDT) を示す。Tam3 がアントシアニン合成に関わる色素遺伝子座に挿入されることで、花斑変異体が誘導される。この斑は、Tam3 の LTDT により 15°C で発生するが、25°C で Tam3 は転移しないため、花卉は斑を生じない白色または淡色の状態にある。本研究では、LTDT に依存しない Tam3 を不活化する遺伝子の同定とその機能の解明を目的にした。*Antirrhinum* の特定の系統には、Tam3 の抑制因子である *Old Stabiliser* (*OSt*) と *New Stabiliser* (*NSt*) が存在することが 1960 年代から知られている。本研究では、*OSt* と *NSt* の同定と Tam3 抑制の機構を解明した。さらに、*Antirrhinum* の *NSt* 遺伝子座でパラミュテーションが発生することを発見した。

***OSt* と *NSt* の同定および Tam3 転移を不活化するメカニズム**

トランスポゾンタギングにより、2 つの *St* 遺伝子座がそれぞれ同定された。*OSt* は、対応する Tam3 と比較して 5' 末端領域が再配置された偽 Tam3 コピーを有し、*NSt* は head to head 配置の 2 つの完全な Tam3 コピーから構成される。いずれの遺伝子座も、完全な Tam3 TPase の産生や TPase の核内輸送には干渉しない。*OSt* と *NSt* の両方は、5' 末端領域に複数の TPase 結合モチーフを含む sRNA を特異的に産生する。Wang 氏は、Tam3 配列の 5' 末端領域を標的とした TRV 媒介ウイルス誘導遺伝子サイレンシングにより sRNA 誘導実験を実施し、*ost/nst* 植物における Tam3 転移が抑制されることを示した。さらに、15°C で育成した *NSt* 植物において、*NSt* 由来の sRNA が Tam3 DNA を標的とするかどうかを検出するために S1-RNase H-S1 消化実験を行った。しかし、sRNA-DNA 相互作用を示すトリプレックスは観察されなかった。代

わりに、*NSt*によって生成された sRNA は複数の TPase 結合モチーフを含み、*in vitro* で合成された Tam3 TPase と相互作用することが示された。これらの結果は、特定の sRNA が Tam3 TPase 結合モチーフを標的とするか、または TPase 自体と相互作用することで Tam3 転移を抑制する可能性を示唆している。そして、2つの *St* から生じたそれぞれの sRNA は、Tam3 DNA を標的とするのではなく、TPase 自体と相互作用する sRNA を発生させることで、Tam3 の転移を抑制していることを明らかにした。

***Antirrhinum* の *NSt* 遺伝子座におけるパラミューテーション現象の発見**

NSt と *nst-22* (HAM3 × HAM22) を交配した子孫において、*NSt* アレルが欠失していても Tam3 の転移が抑制されるパラミューテーションを観察した。*NSt*、*nst-22*、*nst-5* アレルは、それぞれ HAM3、HAM22、HAM5 系統から由来する。HAM3 と HAM22 を交配すると、*NSt* は *nst-22* と共に Tam3 を安定化し、*NSt* がパラミュータージェニックアレル、*nst-22* がパラミュータブルアレルとなる。*NSt* と *nst-5* の交配により、*nst-5* アレルがホモ接合した状態で活性のある Tam3 が生じ、これを中性アレルとした。*NSt* アレルが *nst-22* アレルをパラミューテーションさせた後、パラミューテーションした *nst-22* アレルの Tam3 安定化状態は子孫に継承され、世代を超えて高レベルで維持される。さらに、*nst-22* の構造は *NSt* と *nst-5* と異なり、*nst-22* アレルには Tam3 が存在しない。*NSt* 特異的な sRNA がパラミューテートした *nst-22/nst-22* 植物で機能すると予想し、これらの sRNA を解析するために sRNA-seq を実施した。しかし、パラミューテート *nst-22/nst-22* 植物においてこれらの sRNA は検出できなかった。sRNA の検出が困難な理由は、*NSt* 特異的 sRNA の量が世代更新で減少するためかもしれない。パラミューテーションに絡むメカニズムは、植物ゲノムにおけるトランスポゾンの不活化メカニズムに新たな知見を提供した。

以上、候補者は宿主植物が特定のトランスポゾンに対して特異的に転移を抑制するメカニズムを初めて明らかにした。変異をコントロールすることが必要な品種改良にとってこの研究成果は大きな意義がある。よって、審査員一同は、Wang Shasha が博士（農学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。