

# RNA 機能による DNA メチル化と 転写不活性化の効率的誘導に関する研究

植物育種科学講座細胞工学分野  
河合 文珠

## (背景と目的)

近年、DNA の変化を伴わないエピジェネティックな遺伝子発現抑制機構として、転写型ジーンサイレンシング(Transcriptional gene silencing; TGS)が報告されている。TGS は、遺伝子のプロモーター領域と相同な配列をもつ二本鎖 RNA の存在下で誘導され、植物では一般的に RNA-directed DNA methylation (RdDM)を伴っている。この機構を介して誘導された外来遺伝子の DNA のメチル化ならびに発現抑制が自殖後代でも維持される事例が知られている。したがって、TGS は、遺伝子発現制御機構を明らかにするという観点だけではなく、植物の分子育種のツールを開発する観点からも重要な現象であると考えられる。これらのことを背景として、本研究では、TGS が効率的に誘導される機構の解明を目的とした実験を行った。

## (方法)

ウイルスベクターを用いて外来性遺伝子のTGSを誘導した。カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)35S プロモーター配列の様々な部分配列を挿入したベクターを作成し、これを CaMV 35S プロモーター制御下の GFP 遺伝子が導入された、*Nicotiana benthamiana*の形質転換体に接種した。各挿入配列を持つウイルスベクターのTGS誘導効率を、GFP 蛍光と GFP mRNA 量に基づいて評価した。また、CaMV 35S プロモーター配列のメチル化の状態を sodium bisulfite 法により解析し、siRNA の産生をノーザン法により解析した。

## (結果)

TGS の誘導効率は、ベクターに挿入するプロモーター部分配列の段階的な長さの違いに依存して変化した。また、互いに隣接しない短いプロモーター部分配列を結合すると、単独でベクターに挿入した場合よりも TGS の誘導効率が高まった。TGS が誘導された個体においては、CaMV 35S プロモーター配列を持った siRNA が検出され、挿入配列と相同な植物ゲノム中のプロモーター領域のメチル化が検出された。

## (考察及び結論)

これまでに行われた研究と同様、本研究においても、TGS が、遺伝子のプロモーター領域と相同な配列を持つ siRNA の存在下で、RdDM を伴って誘導されることが示された。また、ベクターに挿入する配列の長さが基本的に TGS の誘導効率に影響を与えることが明らかになった。更に、CaMV 35S プロモーター配列中で互いに隣接せず、単独で用いた場合に TGS の誘導効率が低い挿入配列を組み合わせることにより、TGS 誘導効率を上げることが可能であった。すなわち、連続した一定の長さの挿入配列でなくても TGS を効率的に誘導できることが明らかになり、転写制御に関わる領域が分散して存在するプロモーターに対しても、単一のベクターを用いて TGS が誘導可能であることが示唆された。