

ダイズにおける外来遺伝子の RNA サイレンシングの誘導と伝達に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 森あゆみ

1. 目的

植物に導入された遺伝子は、しばしば RNA サイレンシングにより予期せず不活性化される。外来遺伝子の発現を安定化する観点から RNA サイレンシングの誘導機構の理解が望まれる。しかしながら、その誘導が、温度などの環境要因や、T-DNA の挿入部位やコピー数によって影響を受けることが知られる一方、その統一的な理解は進んでおらず、とりわけサイレンシングの個体内での広がり方や世代を超えての安定性に関する情報は限られている。本研究では、ダイズを研究対象として、外来遺伝子のサイレンシングの誘導、植物体内での拡大、ならびに世代間での伝達を解析した。

2. 材料および方法

カリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーター制御下にある緑色蛍光タンパク質 (*GFP*) 遺伝子を導入したダイズ品種カリユタカを供試した。薬剤耐性で選抜した遺伝子導入個体の中から *GFP* 蛍光が消失している個体を見出し、その T1 から T5 世代の個体について、植物体全体における *GFP* 蛍光および、*GFP* 遺伝子の発現を調べた。

3. 結果および考察

葉における *GFP* 蛍光を観察した結果、①脈を中心としたサイレンシング、②パッチ状のサイレンシング、③葉の全体にわたる弱いサイレンシングという3つのパターンが見出された。*GFP* 蛍光が著しく消失している組織において、*GFP* mRNA 量の減少、*GFP* short interfering RNA (siRNA) の産生があることから、post transcriptional gene silencing による発現抑制が示唆された。サイレンシングの起こり方は、世代間、同一の親由来の個体間で異なっていた。一方、どの個体においても胚では強い *GFP* 蛍光が検出された。これらのことから、サイレンシングは、生殖過程でリセットされ、発芽後の成長過程で細胞自律的に誘導された後、全身的に広がること示唆された。サイレンシングのシグナルが全身的に移動することは、タバコやシロイヌナズナにおける接ぎ木を利用した実験から明らかになっている。本研究により、莢と胚の間、茎と葉柄の間、葉柄と葉の間がこのようなシグナルを介したサイレンシングの広がりを制限するゲートとして機能していることが新たに見出された。これらの部位がどのようにして、サイレンシングの広がりを抑制しているのかを調べるために組織学的解析を行った。その結果、ゲートとして機能している部位の内部構造に、サイレンシングシグナルの広がりの抑制に関与すると想定される共通した特徴が見出された。

4. まとめ

本研究では、ダイズにおける外来遺伝子の RNA サイレンシングの様態を解析し、RNA サイレンシングの植物体内での広がりや世代間での伝達に関する新たな知見を得た。これらの知見は、RNA サイレンシングの誘導機構の解明に寄与するとともに、少なくとも siRNA を含むと想定されるサイレンシングシグナルと個体内での広がり方が類似する、ウイルスなどの小さな分子の植物体内での挙動の解明にも繋がると考えられる。