

# キンギョソウ低温育成下と胚軸・子葉におけるトランスポゾン Tam3 の転移

## と転移酵素遺伝子発現の相関関係

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 植物育種学 中山 優也

### 1. はじめに

トランスポズンは転移に応じて DNA の組み換えや増幅を引き起こすため、突然変異を利用する育種の現場における活用が望まれている。キンギョソウは Tam3 と呼ばれる DNA 型トランスポズンをおよそ 50 コピーゲノム内に有している。Tam3 は hAT super family に属する比較的期限の古い転移因子で、全長 3633bp, 12bp の末端逆位反復配列 (TIRs) をもち、挿入先には Tam3 両末端に隣接させる形で 8 ないし 9bp の TSDs を重複させる。Tam3 は low-temperature-dependent transposition (LTDT) と呼ばれる機構により、25°C 程度の高温時には強く転移が抑制されているが、15°C 程度の低温時にはその活性が 1,000 倍近くにまで高まるという特徴的な性質を有する。また子葉や胚軸では育成温度にかかわらず Tam3 転移が観察され、発育段階的な転移制御が行われていることが明らかになっている。本研究ではこれら Tam3 の 2 つの独特な転移制御機構について、Tam3 転移酵素遺伝子の発現変化が関与するか調査した。

### 2. 方法

アントシアニン合成に関与する酵素 (dihydroflavonol-4-reductase:DFR) をコードする *pallida* 遺伝子のプロモーター領域内に、*pallida* 遺伝子と逆向きに Tam3 が挿入するアリルを有する HAM22 系統 (*pa<sup>l</sup>ec*) は低温条件で花卉に斑入りを生じ、また温度条件に関わらず子葉・胚軸に斑を生じる。高温下である程度育成した HAM22 系統個体を 12°C の低温条件下に移行して 2 週間生育させ、その間 2 日ごとの Tam3TPase 発現と Tam3 転移頻度をリアルタイム PCR によって解析した。また HAM22 系統を高温条件下で播種・生育させ、発芽後 5, 10, 15 日毎の子葉・胚軸での Tam3 転移酵素遺伝子の発現と Tam3 転移頻度をリアルタイム PCR によって解析した。

### 3. 結果と考察

発育過程にある HAM22 系統を低温条件で育成すると、2 日目で Tam3TPase の発現は一時的に増加するが比較的安定していた。同様の条件で 12 時間ごとにサンプリングした葉では Tam3TPase の発現に大きな変動はなかった。葉への斑入りと PCR による解析で、低温処理によって Tam3 転移が生じていることが確認できた。従って低温ストレスと Tam3TPase 遺伝子の発現に相関が無いことが明らかになった。高温条件でも転移酵素の発現は完全に抑制されているわけではないので、LTDT は転写レベルでの制御によるものではないことが確認された。発芽後 5 日から 15 日の間で胚軸では本葉よりやや高いか同程度で発現しており、子葉では約 1.3 倍から 0.4 倍の発現変化が見られた。Tam3 転移頻度は胚軸・子葉とも発育を経る毎に上昇した。本葉での Tam3 転移が完全に抑制されていることを考慮すると、子葉・胚軸で転移酵素の発現を元とした転移制御がなされているとは考えにくい。従って Tam3 非転移条件においても転移酵素遺伝子の発現は完全には抑制されておらず、同時に LTDT や胚軸・子葉特異的な転移は Tam3TPase 発現による制御を受けていないことが判明した。以上の結果から Tam3 転移は宿主によって制御されている可能性が強く示唆された。