

ダイズにおける転移因子および外来遺伝子の DNAメチル化による制御に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 御厨 駿

1. はじめに

一般に、トランスポゾンの転移および転写は、シトシンメチル化を含むエピジェネティックな機構による制御を受けることで抑制されている。*SORE-1* は日長不感受性により早く開花するダイズ系統において、*phytochromeA* (*phyA*) 遺伝子の一つである *GmphyA2* 遺伝子中から発見された long terminal repeat (LTR)型レトロトランスポゾンである。この因子の *GmphyA2* 遺伝子への挿入は、トランスポゾンの遺伝子領域への挿入が植物の環境適応に寄与した数少ない事例の一つである。この事例を含め、これまでの解析から、*SORE-1* が遺伝子領域に転移しうるということが明らかになっている。

修士課程においては、*SORE-1* を突然変異原として利用して新規遺伝資源を創成することを念頭においた研究を中心に、広くダイズにおける遺伝子のサイレンシングに関する研究を行った。それらの中から、主に *SORE-1* の挿入している遺伝子領域に関するシトシンメチル化の状態の解析、ならびに、低分子 RNA を介したシトシンメチル化の可能性を検討した結果を発表する。

2. 材料と方法

ダイズ系統カリユタカを解析に用いた。この系統は、*SORE-1* が挿入した *GmphyA2* 遺伝子を持つ。*SORE-1* ならびに *SORE-1* が挿入した *GmphyA2* 遺伝子領域におけるシトシンメチル化の頻度を bisulfite sequencing 法、ならびに、シトシンメチル化依存性のエンドヌクレアーゼ McrBC を利用した方法により解析した。

3. 結果と考察

Bisulfite sequencing 解析の結果、5'LTR 領域, coding 領域, 3'LTR 領域を含む *SORE-1* の内部のさまざまな領域において、高い頻度でメチル化シトシンが検出された。一方、5'LTR 領域の上流および、3'LTR 領域の下流、すなわち *SORE-1* の外部の *GmphyA2* 遺伝子領域では、ほとんどメチル化シトシンが検出されなかった。シトシンのメチル化は CG, CHG, CHH (H は A, C もしくは T) のいずれの配列においても検出された。McrBC による処理をしたゲノム DNA を鋳型とした PCR 増幅による解析の結果は、これらのことと矛盾しないものであった。一方、低分子 RNA に関する deep sequencing 解析によって、LTR を中心とした *SORE-1* の内部の配列に対応した、主に 24 nt の低分子 RNA が産生していることが見出されていた。24 nt の低分子 RNA は RNA-directed DNA methylation (RdDM) 経路において機能することから、*SORE-1* のメチル化にこの経路が関与することが示唆された。

4. まとめ

GmphyA2 領域に挿入された *SORE-1* において高い頻度でシトシンメチル化が起きていること、ならびに、このメチル化が周辺領域へは広がっていないことが明らかとなった。また、*SORE-1* のメチル化に RdDM の関与が示唆された。*SORE-1* の転移制御機構の解明、ならびに、その人為的な制御に向け、今後は *SORE-1* の転写活性とシトシンメチル化の関わりについての解析が重要であると考えられる。