

ペチュニアにおけるエピジェネティックな表現型の変化と

その誘導機構に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 福本 沙弥

1. はじめに

RNAサイレンシングは遺伝子発現制御機構のひとつとして知られ、塩基配列の相同性が関与して遺伝子発現が抑制される現象である。この現象はペチュニアを対象とした遺伝子導入実験がきっかけとなって発見された。ペチュニアの花では、アントシアニン色素合成に関わるカルコン合成酵素 (*CHS-A*) 遺伝子がRNAサイレンシングによって抑制されると、色素が合成されず花卉が白くなる。このように花色を観察することでRNAサイレンシングの有無を可視的に判断できるため、ペチュニアはRNAサイレンシングの動態を研究するための有力な実験材料である。本研究では、RNAサイレンシングが花卉全体で起こっている形質転換体のペチュニアを用い、これを長期間育成した時に見られるエピジェネティックな表現型の変化とその誘導機構について研究した。

2. 方法

紫色の花を咲かせる野生型のペチュニア V26 系統に *CHS-A* 遺伝子を導入し、花卉全体でRNAサイレンシングを起こしている C001 系統を用いた。C001 系統は *CHS-A* 遺伝子を導入した後、十数世代にわたり安定して白い花を咲かせている系統であるが、この系統のペチュニアを温室で長期間育成すると花色が部分的に野生型の紫色に復帰する。長期間育成によるRNAサイレンシングの動態を明らかにするため、これらの個体群を 'Old C001' として解析に用いた。本研究では、先行研究の結果に基づき、C001 系統から Old C001 が生じる過程に低分子RNAを介したDNAメチル化が関与していると考え、ディープシーケンズ解析とバイサルファイトシーケンズ解析を行った。

3. 結果と考察

CHS-A 遺伝子の short interfering RNA (siRNA) はコード領域から多く産生しており、その量は C001 系統と比較して Old C001 では明らかに減少していた。一方、プロモーター領域からはわずしか産生していなかった。しかしながら、'コード領域から生じた siRNA の量' に対する 'プロモーター領域から生じた siRNA の量' の比をとったところ、この比は C001 系統よりも Old C001 において高かった。このことは特に DNAメチル化の誘導に関与することが知られる 24塩基の siRNA に関して顕著だった。そこで、DNAのメチル化頻度を調べたところ、その頻度はコード領域ならびにプロモーター領域に関して C001 系統よりも Old C001 において高かった。これらのことから、C001 系統を長期間育成することで siRNA の産生状態が変化し、それが引き金となって Old C001 の *CHS-A* 遺伝子において新規のメチル化が誘導されることが示唆された。

4. まとめ

本研究を通して、形質転換体のペチュニアでは、長期間の育成によって、RNAサイレンシングを起こしている遺伝子における低分子RNA産生の動態が変化すること、また、それに伴ってRNAサイレンシングの様式が多様化することが確認された。RNAサイレンシングは植物において普遍性のある遺伝子の調節機構であり、現在、植物の分子育種に積極的に利用されている。これらの知見は、植物が特定の遺伝子の働きを抑制するメカニズムの解明に、さらにはRNAサイレンシングを安定的に維持する上で役立つと考えられる。