

## ペチュニアの花の発生過程における

### カルコン合成酵素遺伝子のコサプレッションの動態に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 金子 聡美

#### 1. はじめに

コサプレッションは、カルコン合成酵素をコードする *CHS-A* 遺伝子を導入したペチュニアにおいて発見された、遺伝子の発現抑制現象である。コサプレッションにおいては、二本鎖の小さな RNA (short interfering RNA : siRNA) によって、それと相補的な配列を持つ mRNA の分解が誘導され、遺伝子の発現が抑制される。コサプレッションが起きたペチュニアの花弁では、内在性の *CHS-A* 遺伝子と外来の *CHS-A* 遺伝子の両者に由来する mRNA が分解されることで、アントシアニン色素の合成が抑制され、着色しない組織が生じる。コサプレッションのように、RNA を介して遺伝子の発現が抑制される現象は総じて、RNA サイレンシングと呼ばれる。RNA サイレンシングのさまざまな反応経路や構成要素の理解が進展したものの、その誘導機構には未解明の部分がある。本研究では、ペチュニアのつぼみの発生が進むにつれて内在性 *CHS-A* 遺伝子の転写量が増加することに着目し、発生段階の異なるペチュニアのつぼみを用いて、コサプレッションにおける分解の対象となる mRNA とその反応過程で生じる siRNA の量的関係を調べた。

#### 2. 材料および方法

野生型ペチュニア系統と、コサプレッションが起きている形質転換ペチュニア系統を用いた。細かく分けた発生段階にあるつぼみより RNA を抽出し、内在性 *CHS-A* 遺伝子と外来の *CHS-A* 遺伝子の mRNA 量を定量 RT-PCR により解析した。また、*CHS-A* 遺伝子の siRNA に関するノーザン解析を行い、つぼみの発生段階に応じた siRNA の産生量の変化を解析した。

#### 3. 結果と考察

定量 RT-PCR 解析により、野生型ペチュニア系統において、つぼみの発生程度に応じて内在性 *CHS-A* 遺伝子の mRNA 蓄積量が増加することが確認された。一方、形質転換ペチュニア系統では全てのサイズのつぼみにおいて mRNA 蓄積量がほぼ同じ程度まで減少していた。ノーザン解析の結果では、形質転換ペチュニア系統において、つぼみが大きくなるにつれて siRNA のシグナルが強くなっていった。また、内在性 *CHS-A* 遺伝子の転写活性が非常に低い状態にある微小なつぼみでも siRNA が検出された。これらのことから、このペチュニア系統における *CHS-A* 遺伝子の RNA 分解は、内在性 *CHS-A* 遺伝子の転写活性が低い状態においても起きており、つぼみの発生が進行する過程で内在性 *CHS-A* 遺伝子の転写活性が高まるにつれ、その程度が高まると推察された。すなわち、コサプレッションにおいては、RNA 分解の反応効率が遺伝子の転写量に応じて動的に変化し、RNA のターンオーバー効率の変化を介して、RNA の蓄積量が常に低く保たれることが示唆された。

#### 4. おわりに

本研究を通して、コサプレッションにおける内在性遺伝子の転写活性と RNA 分解効率の関連性を明らかにすることができた。コサプレッションをはじめとする RNA サイレンシングは、分子育種の有用なツールとして利用されている。しかしながら、RNA サイレンシングを確実に制御する技術は確立していない。RNA サイレンシングの実用性を高めるためにも、その誘導機構を解明することは重要である。本研究の成果は、その解明に貢献するものであると考えられる。