

*Arabidopsis thaliana*における

Transcriptional Gene Silencingの誘導制御に関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 白川 千里

1. はじめに

近年、増え続ける世界人口に対応する食糧生産効率の向上のため、従来の育種技術に替わって植物のエピゲノムを利用した新しい育種技術が注目されている。Transcriptional Gene Silencing (TGS) は植物のエピゲノムを司る発現制御機構の一つである。TGSの中でもDNAのメチル化は遺伝子の発現制御やトランスポゾンの転写抑制に関わっている。本研究は、植物体内でDNAのメチル化が世代間および異なる環境ストレス下でどのように変化するか解析することにより、TGSを育種に応用する上で新たな知見を得ることを目的とした。

2. 方法

世代間におけるメチル化蓄積過程の解析では、*Arabidopsis thaliana* 生態型 Col-0 に 35S-GFP を導入した形質転換体を用いた。この形質転換体は 35S-GFP を含む T-DNA が複数個導入されたため GFP が過剰に発現し、世代を進める過程で GFP のサイレンシングが生じた。興味深いことに、GFP の Post Transcriptional Gene Silencing (PTGS) を示した系統の次世代で、PTGS を示す系統と TGS を示す系統が現れた。このようなサイレンシング様式が異なる系統間で 35S プロモーター領域のバイサルファイトシーケンスを行い、メチル化蓄積の頻度やそのパターンの違いを解析した。また、アスコルビン酸合成能が低下した変異体である *vtc1* の Whole Genome Bisulfite Sequencing (WGBS) を行い、酸化ストレス下における植物のエピゲノムの変化を解析した。

3. 結果と考察

GFP 形質転換体の 35S プロモーターにおける CG メチル化は、世代を経るに従い特に転写開始点上流 100 bp 前後までの領域で増加する傾向にあった。PTGS と TGS を示す姉妹系統の CG メチル化頻度を比較すると、TGS を示す系統においてより高くなっていた。このことから、世代を経ることで一定以上の CG メチル化が転写開始点付近に蓄積すると、メチル化による転写抑制が起きて GFP の過剰発現状態が解消されるとともに TGS へ移行することが示唆された。この姉妹系統間でメチル化程度が異なる要因の1つとして、前世代で受けた環境ストレスの影響が考えられた。例えば、酸化ストレス下に置かれた *vtc1* ではゲノムワイドな脱メチル化が起こっていた。この場合、遺伝子と転移因子間、およびヘテロクロマチンとユークロマチン間では異なるメチル化の変化を示していたことから、これらの領域のメチル化・脱メチル化を司るそれぞれの遺伝子あるいは酵素タンパク質が酸化ストレスによって異なる制御を受けていることが示唆された。

4. まとめ

本研究においては、DNA メチル化の蓄積過程を系統間で比較し、TGS の誘導に重要な DNA メチル化がどのように進行していくかを明らかにした。また、酸化ストレスによってゲノムワイドな脱メチル化が誘導されることを明らかにした。今後は、酸化ストレスが生じる環境条件下で生育させた植物において DNA メチル化がどのように変化していくのか解析することが望まれる。