

# シロイヌナズナを用いたカルコン合成酵素遺伝子の RNAサイレンシングに関する研究

生物資源科学専攻 植物育種科学講座 細胞工学 桑山 和也

## 1. はじめに

RNAサイレンシングとはRNAを介して起こる遺伝子のサイレンシング現象の総称である。植物育種においては、RNAサイレンシングを利用した特定の遺伝子のノックダウンにより、花色の改変や作物の成分改変、遺伝子機能の同定等が行われてきた。一方、植物に導入した外来遺伝子に対して予期せぬRNAサイレンシングが起き、目的の形質が付与できないことが起こりうる。そのため、RNAサイレンシングの誘導機構を解明することは、遺伝子組み換えを利用した育種技術の向上に貢献するものと考えられる。現在までに、RNAサイレンシングの誘導に関わる複数の要因が指摘されているが、その誘導を決定づける条件や因子に関する統合的な理解はなされていない。そこで本研究では、ペチュニアのカルコン合成酵素遺伝子(*CHS-A*)に関する2種類のDNAコンストラクトをもつシロイヌナズナ形質転換体や、シロイヌナズナの*CHS*遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナ形質転換体を用いて、コサプレッションを含む、RNAサイレンシングの動態や誘導条件について調べた。

## 2. 方法

ペチュニアの*CHS-A*遺伝子に関する異なるDNAコンストラクトを持つシロイヌナズナを交配し、親世代、F1世代、F2世代での*CHS-A*遺伝子の発現解析およびメチル化解析、short interfering RNA (siRNA)の検出を行った。また、シロイヌナズナの*CHS*遺伝子のcDNAを過剰発現させるDNAコンストラクトを導入したシロイヌナズナにおいて、スクロース処理によってアントシアニン合成が誘導されることを利用することで、この遺伝子のRNAサイレンシングの誘導を検出し、その動態を調べた。

## 3. 結果と考察

ペチュニアの*CHS-A*遺伝子を導入したシロイヌナズナの交配後代の集団において、*CHS-A*遺伝子のRNA量やエピジェネティックな修飾の状態の変化が検出された。交配後代の集団間でRNAサイレンシングの動態は異なり、この差異は交雑親として用いた系統の違いによるものであることが示唆された。さらに、世代間でも*CHS-A*遺伝子のRNA量や、siRNAの産生の有無、エピジェネティックな修飾に変化が生じる場合があることが明らかとなった。また、シロイヌナズナの*CHS*遺伝子の過剰発現によって種子や葉における表現型に変化が生じ、RNAサイレンシングが誘導されていることが示唆された。

## 4. まとめ

本研究ではペチュニアの*CHS-A*遺伝子とシロイヌナズナの*CHS*遺伝子を対象に、形質転換シロイヌナズナを用いてRNAサイレンシングに関する研究を行った。観察されたRNAサイレンシングの動態は、DNAコンストラクトや系統の違いと関連し、多様であった。得られた知見をこれまでのペチュニアにおけるRNAサイレンシングに関する知見と合わせることで、RNAサイレンシングの機構解明に貢献することが期待される。