

■ 研究課題名

RNA 篩管長距離輸送機構による接ぎ木園芸作物の新規品種改良技術の開発

■ 研究の目的

接ぎ木技術はリンゴやトマトなどで活用されており園芸作物特有の栽培法である。一方、植物の篩管を通して長距離輸送される特定 RNA 分子の機能性が明らかとなってきた。そこで、RNA 輸送機構を応用し目的の遺伝情報 (RNA) をより確に運搬・機能させることができるシステムを開発し、その系を付与した組換え台木に接ぎ木することによる、穂木の新規品種改良技術を創出する。本技術の特徴は、穂木には導入 DNA が存在しないため、花粉飛散による組換え遺伝子の漏出問題をクリアできることにある。

■ 研究項目・実施体制 (◎は研究代表者)

- ①篩管輸送 RNA 発現ベクターの構築
(◎原田竹雄、葛西厚史、津和本亮／弘前大学 農学生命科学部)
- ②篩管輸送 RNA システムによる品種改良の実用的研究
(◎原田竹雄、葛西厚史、津和本亮／弘前大学 農学生命科学部)



原田竹雄

■ 研究の内容・主要な成果

- ①リンゴ樹においても特定の mRNA が篩管長距離輸送されている事実を明らかにした。
- ②篩管輸送 RNA を輸送起点の伴細胞で産生するシステムを構築し、その輸送性を高めることができた。
- ③ mRNA の篩管長距離輸送ドメインを明らかにし、このドメインを融合することで、非輸送性 mRNA を篩管輸送することができた。
- ④遺伝子ノックダウン用 siRNA を用いた篩管輸送システムを導入した個体を穂木として接ぎ木することで、台木のターゲットとした内生遺伝子に転写後型ジーンサイレンシングを発動できた。
- ⑤転写型ジーンサイレンシングにおいても siRNA 篩管輸送で接ぎ木相手に発動できること、さらに側根では根端分裂組織 (根生不定芽) もサイレンシングが発動され、新たな品種改良法が開発された。(図 1)
- ⑥ウイロイドの siRNA を篩管輸送する台木により、穂木におけるウイロイド増殖を抑制することができた。(図 2 左)
- ⑦ジベレリン応答抑制因子の変異遺伝子転写物を産生させるリンゴ台木品種マルバカイドウを作出し、新たな矮性台木を作出することができた。(図 2 右)
- ⑧以上、台木/穂木間両方向で、RNA 篩管長距離輸送機構による品種改良技術が開発できた。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

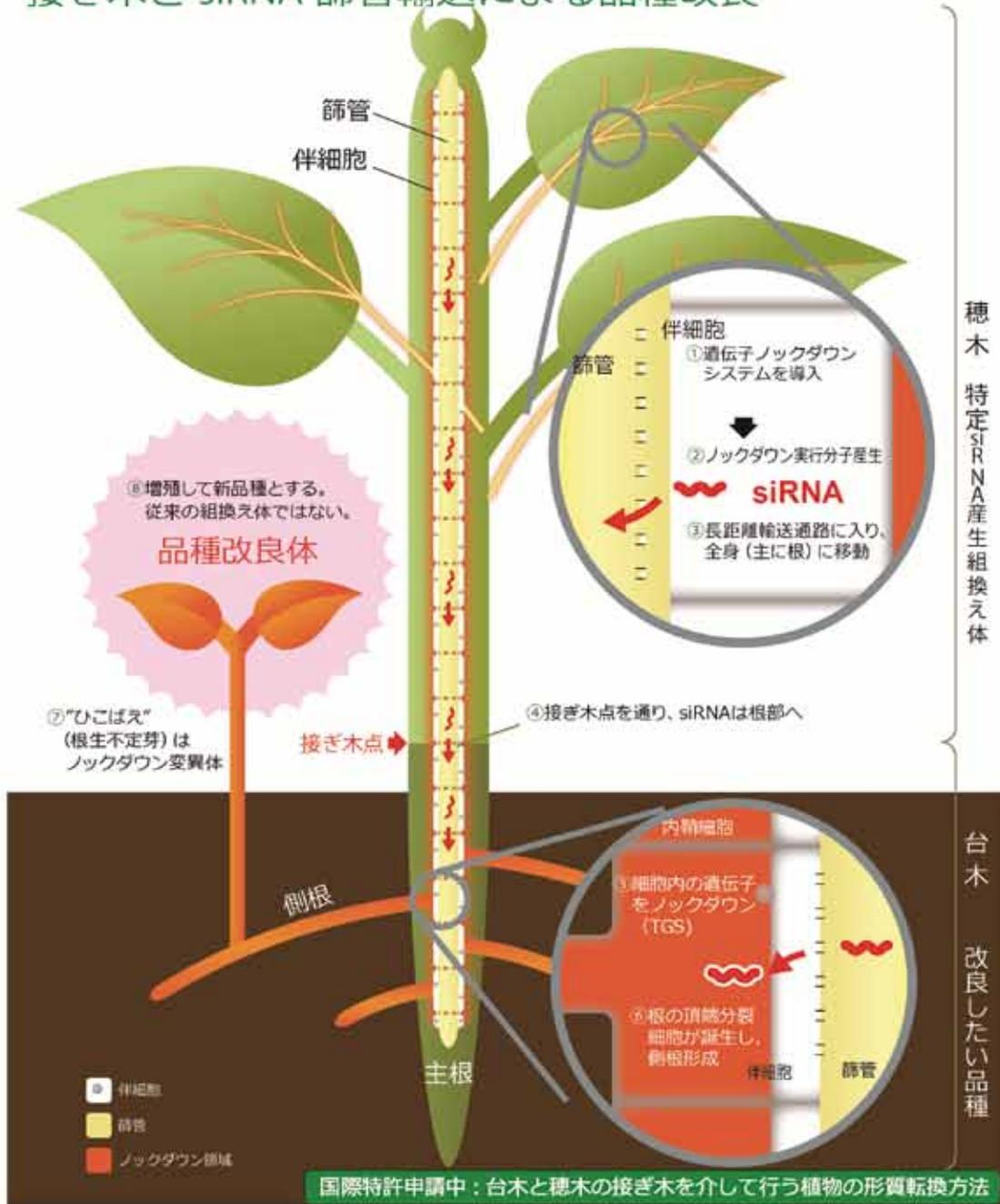
RNA 篩管輸送システムの組換え体による接ぎ木パートナーの品種改良法は、新規の形質転換法を創出することになる。特に、従来の品種改良には十年近くの年月を要する果樹では画期的な技術となる。さらに、siRNA 篩管輸送による接ぎ木パートナーのエピジェネティック変異発動個体は従来の組換え作物に該当しないことも極めて大きなメリットである。想定している用途、利用分野およびその市場としては、果樹、野菜、花木を取り扱う多くの種苗会社、およびこれらの育種を取り扱う公的試験研究機関である。

■ 公表した主な特許・論文

- ①Wang A., et al.: Null mutation of the *MdACS3* gene, coding for a ripening-specific 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase, leads to long shelf life in apple fruit. *Plant Physiol.*151: 391-399 (2009)
- ②Tsuwamoto R., Harada T.: Identification of a cis-regulatory element that acts in companion-cell-specific expression of *AtMT2B* promoter through the use of Brassica vasculature and gene-gun-mediated transient assay. *Plant and Cell Physiol.*51: 80-90 (2010)
- ③Kanehira A., et al.: Apple phloem cells contain some mRNAs transported over long distances. *Tree Genetics and Genomes* 5: 635-642 (2010)
- ④Kasai A., et al.: Graft-transmitted siRNA signal from root induces visual manifestation of endogenous post transcriptional gene silencing in the scion. *PLoS ONE* 6:e16895 (2011)
- ⑤Bai S., et al.: Mobile signal transported over a long distance induces systemic transcriptional gene silencing in a grafted partner. *J. Exp. Bot.* 62: 4561-4570 (2011)

■ 研究成果の具体的図表

図 1. 接ぎ木と siRNA 篩管輸送による品種改良



遺伝子ノックダウンは転写型サイレンシング。全行程は実験室内の培養システムで実行。

図 2. 篩管輸送 RNA システム導入個体



作出されたウイロイド病抵抗性タバコ。
遺伝子 PSTVd の siRNA 輸送で穂木が抵抗性となる。



作出された矮性マルバカイドウ。
遺伝子 *Atgai* mRNA 輸送で穂木が矮化する。