

RNA Silencing in Higher Plants and Functional Genomics

植物における RNA 機能の不活化と 遺伝子機能解析



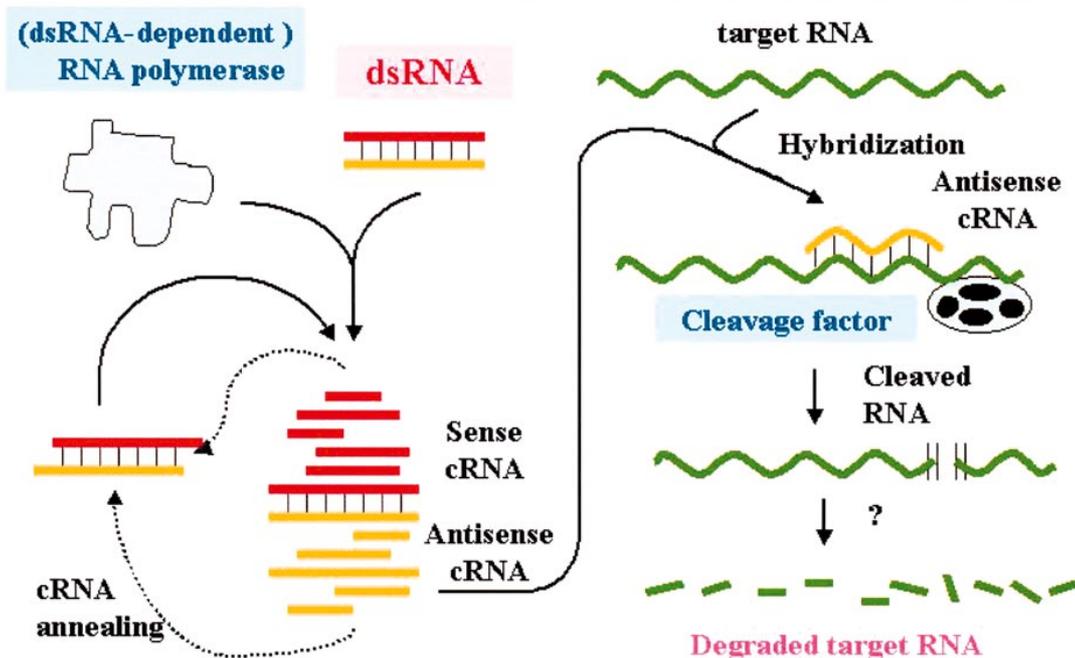
プロジェクトリーダー 佐藤 文彦
京都大学 大学院生命科学研究科 教授

1. 研究の目的

ゲノムプロジェクトの進展に伴う大量の遺伝子情報を元に、それぞれの遺伝子機能を同定し、それを利用するためには、DNAアレー等バイオインフォマティクス解析とともに、個別の遺伝子の機能の同定が必要不可欠である。形質転換植物を用いた遺伝子の過剰発現による機能の推定は有効ではあるが、より有効な手法は、遺伝子発現の抑制（破壊）による遺伝子機能の推定である。植物においては、T-DNA やトランスポゾンを用いた遺伝子破壊、アンチセンス RNA を用いた遺伝子発現抑制による解析などが用いられているが、これらの技術は未だ不完全であり、重要な作物等において適用できる段階には至っていない。さらに、これまでの 1 遺伝子破壊によって明らかになってきたことは、多くの遺伝子は重複しており、かつ、相補的な代謝系が発達しているために、単一の遺伝子破壊だけでは、表現形質を特定するには十分ではないことである。従って、単独の遺伝子発現抑制形質転換体、あるいは破壊株の解析とともに、複数の遺伝子発現抑制が必要となるが、これを従来法で行なうには、多大の時間と労力が必要となる。一方、複数遺伝子の抑制のための遺伝子組換え技術の開発はなされていない。

本研究計画の目標は、RNA 機能の不活性化による新規な遺伝子発現抑制技術を開発することにより、上記の問題を解決し、ゲノムプロジェクトによって獲得した遺伝子情報から、遺伝子機能を迅速に同定するとともに、これら遺伝子発現抑制個体を用いて高次の生命現象を解析することにある。さらに、RNA 機能の不活性化の機構の解明により、次世代の遺伝子組換え技術の基盤を確立することを目的とする。

RNAi(RNA interference)とは？



2. 研究の内容

本研究で開発を予定しているRNA機能の不活化(RNAi: RNA interference)法は、転写後の遺伝子発現抑制(PTGS: post-transcriptional gene silencing)を引き起こすことにより遺伝子発現を特異的に阻害する手法である。この現象(PTGS: コサプレッション)そのものは、高等植物において最初に報告されたものであるが、汎用的に用いることのできる手法は高等植物においては未だ確立されたとはいえない。

本研究計画では、1) RNAiによる機能解析研究として、植物における簡便RNAi法を確立し、その利用により、遺伝子機能の迅速解析を行なう。また、2) RNAiの分子機構研究として、遺伝子発現制御の根幹にかかわるPTGSの分子機構を明らかにする。

RNAiによる機能解析研究では、まず、簡便なRNAi法を確立するために、導入RNA分子配列、導入配列の鎖長、導入方法等々の詳細な検討を行なう。特に、本計画では、安定形質転換による遺伝子発現抑制とともに、遺伝子操作によらない遺伝子発現制御(抑制)を目指し、対象とする植物種、時期を限定せず、かつ複数の遺伝子の発現抑制を対象とした遺伝子発現抑制系の確立を試みる。こうした方法が確立されることにより、より広範な環境条件での遺伝子機能の解析が容易となるとともに、複数の遺伝子の相互作用を解析できるという特色を有する。本研究では、これら基本的技術を開発するとともに、さらに、この技術を用いて、植物の機能、特に、細胞分化、雌雄分化、二次代謝機能分化などに関わる遺伝子の機能の特定を行なうが、そのための遺伝子情報の取得も合わせておこなう。また、安定な遺伝子機能抑制のための分子設計を行なうために、試験管内でのRNAi反応の再構成を試み、RNAiに関わる因子の特定とその応用による安定なRNAi法の開発を行なう。

一方、RNAiの分子機構研究では、RNAiの機構、特に、重要な作物である単子葉植物における分子機構を解析することにより、RNAiのより効果的利用、例えば、より強い抑制、抑制からの解除、あるいは、PTGSを起こさない遺伝子組換え法の基盤を確立する。この目的のために、誘導性の遺伝子発現抑制系を確立するとともに、組織特異的な発現抑制の機構を、特に、イネ種子のWx遺伝子をモデルに解析していく。

3. 研究の体制等

期 間：2000年11月～2005年3月

構 成：プロジェクト・リーダー：佐藤文彦(京大生命科学研究科教授)

コアメンバー：4名、研究協力者15名(内ポストドク：5名)

実施場所：京大生命科学研究科(京都市左京区北白川)、大阪大学工学研究科(吹田市山田丘)、新潟大学農学部(新潟市五十嵐2の町)、奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス科(生駒市高山町)