

通し番号	3993
------	------

分類番号	15-0A-12-10
------	-------------

(成果情報名) カブモザイクウイルス(TuMV)外被タンパク質(CP)遺伝子を導入した形質転換植物からの非RI法によるsiRNAの検出	
[要約] TuMV-CP遺伝子を導入したシロイヌナズナ及びNicotiana benthamianaのTuMV抵抗性形質転換体から非RI法によるノーザンブロット解析によりsiRNA(small interfering RNA)が20~25bpの位置に特異的なシグナルとして検出できる。	
(実施機関・部名) 神奈川農業総合研究所 生物資源部	連絡先 0463-58-0333

[背景・ねらい]

植物ウイルスの外被タンパク質等の遺伝子を導入した植物がRNAサイレンシングを起すとウイルス抵抗性を示すことが明らかにされている。この場合、RNAサイレンシングによるウイルス抵抗性の分子マーカーとなっているsiRNAについては一般にRIを用いて検出されている。そこでsiRNAを実用マーカー化するため、TuMV-CP遺伝子を導入したTuMV抵抗性の形質転換植物から非RI法によってsiRNAを検出する技術を確立する。

[成果の内容・特徴]

1. 形質転換体及び対象の非形質転換体から全RNAを抽出し、低分子量RNAのみを分画した後、ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、ナイロンメンブレンにプロットした。
2. DIGラベルしたTuMV-CP遺伝子のRNAプローブを合成し、ハイブリダイゼーションを行った後、メンブレンの洗浄及びシグナルの検出を行った。
3. TuMV抵抗性のシロイヌナズナ及びN. benthamiana形質転換体からは21~25bpの位置にsiRNAが検出されたが、感受性個体及び非形質転換体では検出されなかった。

[成果の活用面・留意点]

1. RNAサイレンシングは、植物の病害抵抗性や形態形成に関与する普遍的な機構であることから、従来育種へ応用可能な分子マーカーとして利用できる。

[具体的データ]

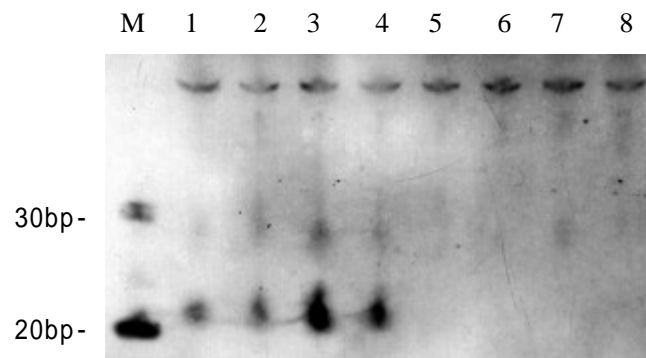


図1 TuMV-CP 遺伝子を導入したシロイヌナズナ形質転換体において非 RI (DIG) 法により TuMV 抵抗性個体に特異的に検出された siRNA のシグナル
M : 20bp 及び 30bp のオリゴヌクレオチドマーカー
1 ~ 4 : TuMV 抵抗性個体
5 ~ 8 : TuMV 感受性個体

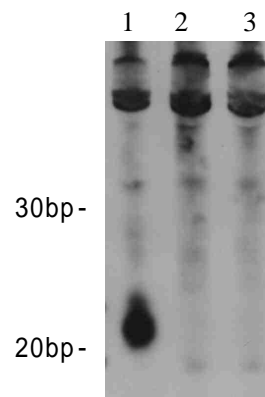


図2 TuMV-CP 遺伝子を導入した *N.benthamiana* 形質転換体において非RI (DIG) TuMV 抵抗性個体に特異的に検出された siRNA のシグナル
1 : TuMV 抵抗性個体
2 : TuMV 感受性個体
3 : 非形質転換体

[資料名] 平成15年度試験研究成績書(野菜)

[研究課題名] バイオテクノロジーを利用したかながわ特産品の開発

[研究期間] 平成15年度

[研究者担当名] 野村 研