

アサガオにおける暗期誘導性遺伝子の発現解析

(応用生物) 岩岸瑛里子

1, 緒言

高等植物は、根、茎、葉、花といった器官から構成されている。植物は、神経系のような高度に発達した情報伝達システムを持たないが、植物ホルモンや代謝産物を介した器官間コミュニケーションが存在する。例えば、葉が感受した光周性シグナルは花成ホルモンの働きで茎頂分裂組織に伝達され、花芽形成を引き起こす。また、傷害や感染シグナルが植物体全体に伝達されることも知られている。

アサガオは典型的な短日植物で、長時間（16 時間以上）の暗条件に一度さらされるだけで、花芽誘導を受ける。本研究では、アサガオの花成誘導機構に関する研究の過程で、暗処理することで子葉での発現が誘導される遺伝子を複数取得している。本研究では、これらの遺伝子の傷害ストレスおよび光シグナルに対する応答性を詳細に解析した。その結果、子葉切除にตอบสนองして、根で発現制御を受ける遺伝子を同定したので報告する。

2, 実験方法及び結果

2-1, 38-1 遺伝子の傷害に対する発現応答

アサガオ(*Pharbitis nil*)の遺伝子 38-1 は、生長点での発現が短日処理（16D:16 時間暗処理）によって誘導され、定常光照射下では抑制される遺伝子として同定されたもので、SAM ドメインを持つ機能未同定の遺伝子である。本研究では、各器官における、38-1 遺伝子の発現の光および傷害シグナルに対する応答について詳細に解析した (図 1)。光に対する応答は、5 日間の連続光照射(120 μ mol/m²·s)後の 16 時間光照射(16L)、5 日間の連続光照射後の 16 時間暗処理(16D)で比較した。また、傷害処理は、5 日間連続光で育てたアサガオ(CL)に対して行った。傷害の種類には、子葉を注射針で軽く引っかいたもの(scratch)、子葉を二枚とも半分に切ったもの(half cut)、二枚ある子葉のうち一枚を切除したもの(alternative)、子葉を二枚とも切除したもの(cotyledon cut)、地上部を切除したもの(shoot cut)を用意した。傷害処理後、16 時間明処理(16L)または

16 時間暗処理(16D)を行った植物体の子葉から QuickPrep micro RNA Purification Kit を用いて

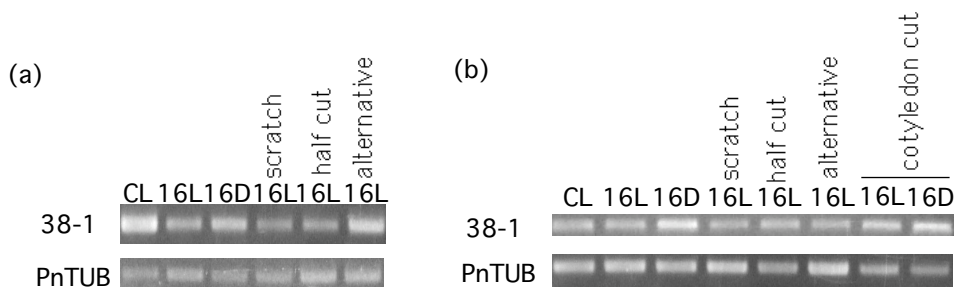


図1. 子葉及び胚軸での傷処理に対する発現

(a) 子葉での発現 (b) 胚軸での発現

total RNA を抽出した。抽出した total RNA を用いて RT-PCR を行い、発現変化を調べた。チューブリン遺伝子の発現をコントロールとし、サイクル数などを最適化した条件で RT-PCR を行った。

子葉における 38-1 遺伝子の発現は、生長点の場合と同様、16 時間の暗処理で誘導されていた (図 1)。興味深いことに、子葉の一方を除いた場合、もう一枚の子葉での発現が高まっていた。続いて、胚軸での 38-1 遺伝子の発現について検討した。胚軸の場合も、16 時間の暗処理で 38-1 遺伝子の発現が誘導された。そして、2 枚の子葉を切除した場合では、明条件(16L)においても発現の誘導が見られた。38-1 遺伝子の発現が傷害シグナルに応答している可能性についても検討したが、子葉に傷を与えただけでは発現誘導が全く見られず、その可能性は低いと判断された。

一方、根においては、16 時間の暗処理による 38-1 遺伝子の明瞭な発現誘導は確認されなかった (図 2)。このことから、シュートが受けた暗条件のシグナルは、地下部へは伝達されていないと考えられる。一方、子葉を除去した植物の根での発現を調べたところ、興味深いことに、明暗条件に関わらず 38-1 遺伝子の高い発現が見られた。この場合も、子葉に傷を与えただけでは発現誘導は見られなかった。以上の結果は、子葉と根の間に何らかのコミュニケーションが存在し、38-1 遺伝子の発現を制御している可能性を示している。

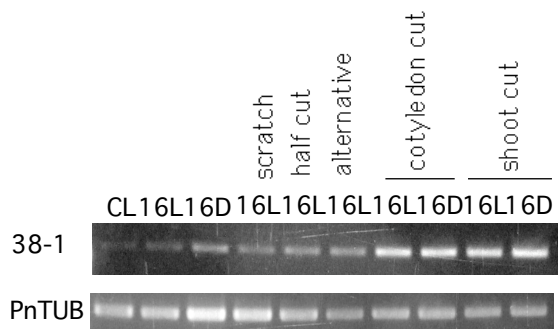


図2、根での傷処理に対する発現

2-2、アサガオの他の遺伝子における傷害と暗期に対する応答について

シロイヌナズナと相同領域を持つ、アサガオの他の 13 種の遺伝子についても、同様な条件での発現解析を行った。その結果、暗期に応答して子葉で発現が高まる遺伝子を 4 種同定した。その一つ、18E06 については、38-1 遺伝子と同様に、子葉除去によっても根で発現誘導を受ける遺伝子であることが確認された。18E06 遺伝子は、シロイヌナズナの機能未同定の遺伝子 At1g22630 のホモログであった。

3、考察

本研究によって、子葉から何らかのシグナルが根に伝達され、38-1 および 18E06 遺伝子の発現を制御していることが明らかになった。これらの遺伝子は単なる傷シグナルに対して応答しているのではないらしい。子葉でつくられた物質が根や胚軸での遺伝子発現を抑制し、子葉切除によって、その物質の転流量が低下することで 38-1 遺伝子の発現が高まるという可能性が考えられる。一つの可能性として、38-1 遺伝子の発現上昇が光合成産物の転流形態であるショ糖レベルの減少によってもたらされていることが考えられる。今後、ショ糖存在下での 38-1 遺伝子の発現応答を解析していく予定である。