

テンサイ当年抽苔の制御に関する基礎研究

久保 友彦 [北海道大学大学院農学研究科/講師]

背景・目的

テンサイは北海道の基幹畑作物の一つであり、輪作体系の一翼を担う重要な地位を占めている。テンサイは二年生植物であるので、初年度は専ら栄養成長に終始して根部が肥大し、越冬後抽苔・開花に至る。通常は肥大した根部を初年度に収穫するが、本道では夏期に長日・冷涼となるため、栄養成長を早々に切り上げて初年度に抽苔・開花が起こる個体が出現し、収穫量を減ずる要因となっている。本研究では、生殖生長転換に関与すると思われるテンサイ遺伝子クローンを単離し、育種への応用が可能か否かを検討する。

内容・方法

① テンサイ生殖成長転換関連遺伝子の単離

テンサイより、栄養成長から生殖成長への転換に関与すると考えられるPolycomb類似遺伝子を単離する。ディジェネレートプライマーを用いたPCR法により遺伝子の断片をクローン化し、その後、完全長クローンをRACE法で得る。

② テンサイ生殖成長転換関連遺伝子の特徴付け

得られたテンサイ遺伝子について、RT-PCRやノーザン解析による発現調査を行う。また、シロイヌナズナやテンサイに構成的異所的に発現させたトランスジェニック植物を育成し、花成の遅延や促進が起こるのか否かを調べる。

③ テンサイ生殖成長転換関連遺伝子の連鎖地図へのマッピング

得られた塩基配列を元に、系統間のDNA多型を探し出してテンサイ連鎖地図上の座乗位置を決定し、既知の抽苔関連遺伝子との連鎖を調べる。

結果・成果

(1) acidic-W/Mドメインを保持するcDNAの単離

acidic-W/Mドメインを標的とする2種のプライマーによりPCR増幅された家畜ビートゲノムDNA断片をプローブに用いてテンサイ花序cDNAライブラリーのスクリーニングを行った。得られたcDNAクローンの塩基配列から、アラビドプシスVRN2(以下atVRN2とする)と45%の一致を示す遺伝子(bvVRN2)が得られた。

(2) bvVRN2の発現

bvVRN2の発現をRT-PCRで調査したところ、全ての器官から増幅産物を得た。さらにノーザン解析により相対的な発現量を調査した。その結果、長時間の露光により根において微弱

な1.7kbのシグナルバンドが得られ、mRNAは根で最も蓄積していることが分かった。RT-PCRを行う過程で、緑葉と根から期待よりもサイズの大きいPCR産物が出現したので塩基配列を決定した。その結果、Zinc-finger region直前にalternative splicingの結果生じた74bpの挿入を発見した。74bpの挿入配列を持つRT-PCR産物はTA33-Oからは出現しない。

(3) bvVRN2の系統間多型を見出す試み

得られたbvVRN2 cDNAを用いてサザン解析を行ったが、遺伝解析に足る多型は出現しなかった。

(4) bvVRN2の細胞内局在

様々な欠失変異を導入したbvVRN2とGFPを融合させ、細胞内で一過的に発現させて緑色蛍光の局在を調べた。その結果、全長に近い融合タンパク質では核への局在が認められたが、核局在シグナルを除いた融合遺伝子では、小胞体と思われるオルガネラから緑色蛍光が得られた。最も短いコンストラクトでは細胞全体が緑色蛍光を発したので、未知のシグナル配列の存在が示唆される。

(5) bvVRN2を導入した形質転換体の表現型

bvVRN2をCaMV35Sプロモーター制御下におき、シロイヌナズナに導入した。独立な形質転換体を複数得て、長日条件下と短日条件下で育成したところ、非形質転換体と比較して、若干の抽苔開花の遅延が認められた。このような表現型は現在提唱されているVRN2遺伝子機能からは予想されず、bvVRN2には固有の機能があるのかも知れない。

今後の展望

本研究から、bvVRN2に関して興味深い点がいいくつか浮かび上がってきた。まず、形質転換植物が抽苔・開花の遅延を示したのは、この遺伝子がテンサイ抽苔抑制に利用できる可能性を示している。そのためにはbvVRN2の機能解析を今後も進める必要があり、特にalternative splicing産物の機能や、小胞体局在についてその意義を明らかにしなくてはならない。残念ながら本研究ではbvVRN2のマッピングには至らなかった。これについては、現在ゲノムDNAクローンの解析を進めており、系統間で構造多型を示す領域を探索中である。