

モデル植物 *Arabidopsis thaliana* のタグ挿入変異体を用いた機能解析

齋藤 臣雄

アブラナ科植物シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) は、個体サイズが 20–40cm、世代時間が 2–4 ヶ月と短い、などの特長をもっている。染色体数が 5 でゲノムサイズが約 120Mb と小さく、コードされているタンパク質は約 25,000 種といわれている。

植物においても、変異体を用いた研究は遺伝子・タンパク質の機能解析を行う上で重要であり、多くの遺伝子欠損変異体ライブラリが作製・利用されている。米国では、SALK Institute の Joseph R. Ecker のグループが T-DNA タグ挿入変異体を 146,000 種を作出して ABRC から分譲している。国内では理研植物分子生物学研究室およびゲノム科学総研センターが、約 18,500 種の Ds タグ挿入変異体を作成し、理研 BRC から分譲を行っている。

本研究では、植物の形態異常に注目して、原因遺伝子およびその機能解析を試みた。

Defection of arogenate dehydrogenase TyrAAT2 causes reticulate leaves phenotype in *Arabidopsis thaliana*.

Tamio Saito, Yuko Imura, Takashi Kuromori and Kazuo Shinozaki (RIKEN)

Plant Cell Physiol. in prep. (2005)

要旨

理研 Ds タグラインから、葉脈間の組織が pale green で、葉脈が網目状に見える (reticulate) 植物個体を見出した。Ds タグはチロシン生合成酵素 Arogenate dehydrogenase をコードする遺伝子 *TyrAAT2* に挿入されており、転写産物の欠失も確認された。変異体をチロシン 0.1–1mM を含む培地に移すと表現形が回復することから、チロシン欠損が網目葉の原因であると結論された。そこでこの変異体を Rety (Reticulate leaves caused by tyrosine deficiency) と名づけた。

クロロフィル蛍光測定によれば、Rety の光合成能は野生型植物の約半分であり、自家蛍光による観察では葉緑体が大きいことから、チロシン欠乏が葉緑体構造タンパク質の欠損を、延いては葉緑体形成異常を引き起こしたものと推定した。Rety 葉部の遊離アミノ酸を分析したところ、チロシンは半量以下のレベルにまで低下していたが、フェニルアラニンに大きな変動は見られなかった。葉部のタンパク質を 2 次元電気泳動法により比較したところ、Rety において変動したスポットが多数確認できたが、TOF-MS 分析により同定した中に、葉緑体形成異常に直接結びつくものは無かった。

シロイヌナズナには 2 種の Arogenate dehydrogenase が存在するが、もう一方の *TyrAAT1* の、Rety 葉部における転写産物量は野生株と同等であり、チロシンの投与によって表現形が回復する過程においても変化しなかった。また、*TyrAAT2* の発現量もチロシンの投与によって変化していないことから、Arogenate dehydrogenase の機能発現は転写レベルではなく、ADG タンパク質のアロステリックな調節によることが再確認された。 β グルクロニダーゼ (GUS) をマーカーとするプロモーター解析の結果、*TyrAAT1* および 2 は恒常的に発現しており、*TyrAAt1* が主に地上部の分裂組織と葯で発現しているのに対し、*TyrAAT2* は根で発現していることが示された。

この他、形態異常を示す他の変異体の原因遺伝子追究の過程についても紹介したい。