

## トマトの落花と落果で異なる離層細胞壁の制御メカニズムに関する研究

土屋 結実 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 古川 純 (筑波大学 生命環境系)

### 背景及び目的

植物個体において細胞同士が離れる現象の代表に、器官脱離があげられる。特に落花や落果を代表とする器官脱離は農業や園芸学において非常に重要な現象の一つである。多くの植物では、葉柄や花柄の基部に離層の形成を伴う。離層部には特殊に分化した小さな分裂組織細胞が存在し、繊維が存在していないため、機械的にも弱いことが知られている。受粉が成功しなかったとき、花は離層から落花する。この時、花は離層から脱離することが知られている。トマトでは受粉成功後の果実形成過程で離層を含む小花柄を発達させ落果を防ぐ一方、完熟した果実では離層に簡単な刺激を与えるだけで落果する事が観察されている。このようにトマトでは受粉及び果実成熟を介した二段階の器官脱離制御が行われていることが示唆されているが、現在までにその制御機構の違いはよくわかっていない。そして、この二段階の脱離で、細胞壁構成多糖に分布的・量的変化が起こっている事が、免疫組織化学染色で明らかになっている (Iwai H et al. 2013)。花の脱離において、離層を形成する細胞層は基部側で、キャップ構造を構成する。このキャップ構造には、キシログルカンとアラビノガラクトンが蓄積し、新しい細胞壁の再編成が確認されている。果実の脱離においても、このキャップ構造が確認されているが、落果ではリグニンによる細胞壁再編がされることが分かっている。

このように器官脱離では細胞壁再編が行われ、また落花と落果で異なる細胞壁制御がされる事が示唆されている。しかし現在までは脱離前、脱離が生じる2ステージのみの観察が行われただけで、受粉が行われなかった直後から脱離が生じるステージまでの過程において、どのように細胞壁再編の変化が生じているかについて全くわかっていない。また、その細胞壁再編に関わる細胞壁関連酵素の動態についても未知である。そこで本研究では、落花と落果の離層における細胞壁多糖類と細胞壁関連酵素の経時的变化を観察し、その制御メカニズムについて明らかとすることを目的に実験を行った。

細胞壁再編に関わる酵素として、キシログルカン転移酵素/加水分解酵素 (XTH) とエクспанシン、二次細胞壁合成に関わるセルロース合成酵素 (CesA7) に注目した。XTHはキシログルカンのつなぎかえ/加水分解を行う酵素であり、細胞伸長をはじめとした細胞壁再編に大きく関わっていることが知られている。エクспанシンはキシログルカンとセルロース間の結合の切断をするとともに、器官脱離時の離層細胞の膨張に関与しているとされている。また、CesA7は維管束分化・発達のマーカー遺伝子である。これら関連酵素を調べることで、細胞壁再編のメカニズムについて調査を行った。

### 材料及び方法

研究材料にはトマト (*Solanum lycopersicum*) を用い、品種はトマト果実研究のモデル品種である Micro Tom を用いた。花のステージを開花後日数として Day Post Anthesis: DPA で表した。花においては、-1DPA の離層、受粉した花 (脱離しない) の 1, 2, 3DPA、受粉していない花 (脱離する) の受粉阻止後 1, 2, 3 DPA の離層をサンプリングした。また、受粉阻止した花の器官脱離が容易に生じるステージである小花柄が黄色くなっている離層の8つをサンプリングした。この8つのサンプルで抗 XTH 抗体、抗エクспанシン抗体、抗キシログルカン抗体 (LM15)、抗アラビナン抗体 (LM6) を用いた免疫組織化学染色を行い、それぞれの蓄積の経時的变化を観察した。果実においては、現在進行中であるが、未熟な果実 (脱離しない) と、完熟した果実 (脱離する) の離層をサンプリングし、抗 XTH 抗体、抗エクспанシン抗体、抗 CesA 抗体を用いてドットプロットによるシグナル強度の同定を行う予定である。

### 結果と考察

落花の際の離層部では、開花後から3日目にかけて、ヘミセルロース性多糖類であるキシログルカン、アラビナンが、脱離するステージをピークに受粉阻止直後から徐々に蓄積していく様子が観察された。また、細胞壁のゆるみに重要なエクспанシンは、このヘミセルロース性多糖類とほぼ同様のパターンでシグナルの増加が観察された。

しかし、XTHは受粉阻止した直後から増え始め、一日目で蓄積のピークを迎え、その後シグナルは減少した。一方、このようなヘミセルロースとエクспанシン、XTHの増加は、落花が生じない受粉を行った場合は観察されなかったことから、これらの変化は器官脱離が起こる花の離層に特有であることが示唆された。XTHは受粉阻止した直後からキシログルカンの合成や代謝に関わり、このXTHの細胞壁再編の働きが、その後のキシログルカンの増加を促進していると考えられたことから、器官脱離時のキャップ構造の構築は、受粉が生じなかった直後から行われていることが示唆された。またエクспанシンが日数の経過につれ増加し、脱離が行われるタイミングでピークを迎えるのは、エクспанシンによる細胞の膨張が、器官脱離の実行の段階で必要であるためだと考えられる。またエクспанシンの働きでキシログルカンがセルロースから切断されたことが、抗体により認識されるキシログルカンの増加に繋がったと考えられる。このように落花の際には、細胞壁関連酵素が働き、その結果細胞壁多糖類の分布にも変化が現れていることが示された。果実での免疫組織化学染色は現在進行中であるが、抗 CesA7 抗体による染色で、二次細胞壁合成過程を今後見ていく予定である。