

## アサガオの光周性花成及び形態形成に関わる遺伝子の研究

本田 光明 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 小野 道之 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景・目的】

高等植物には自身を成長させ葉を茂らせる栄養成長相と、花を咲かせ次世代を生み出す生殖成長相の 2 つの発生ステージが存在する。栄養成長相から生殖成長相への移行は花成と呼ばれ、内因性・外因性の様々なシグナルによって引き起こされることが知られている。特に、日長を感受することで起きる花成のことを光周性花成といい、多くの植物が生殖に適切な季節に花を咲かせるための主要なメカニズムとして働いている。

高等植物の研究モデルであるシロイヌナズナの光周性花成は 2 段階のステップから構成される。始めに葉で日長が感受され、花成ホルモンタンパク質である FLOWERING LOCUS T (FT) が合成された後に篩部を通して茎頂まで移動する。このステップを花成誘導と呼ぶ。次に茎頂にて FT が FD タンパク質等と転写活性のある複合体を形成し、花器官形成のカギとなる APETALA1 等の遺伝子発現を促進することで花の原基形成が始まる。このステップを花成誘起と呼ぶ。花成誘起の関連遺伝子として LEAFY が知られている。LEAFY は APETALA1 と正のフィードバックループを形成するため、花成促進因子として機能する。また、LEAFY を欠損することで花弁・雄ずい・心皮が大量のがくに置き換わる表現型を示すことから花器官形成にも関与している。LEAFY のアサガオ相同遺伝子 PnLEAFY の光周性花成および形態形成に関わる働きを調べるのが本研究の目的である。

条件的長日植物であるシロイヌナズナは、日長以外のシグナルの影響を受けやすいために光周性花成を厳密に調べることは困難である。一方、本研究で用いたアサガオ (*Pharbitis nil*) は 12~16 時間の暗期を 1 回与えることで確実に花成が誘導される絶対的短日植物であるため、光周性花成研究において重要である。

本研究は前任者が作成したアサガオ品種ムラサキの PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統の次世代である T2 種子を栽培し、種々の表現型を観察することで PnLEAFY の機能について考察することに重きを置いている。

## 【材料・方法】

PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統 T2 種子を吸水・播種後 6 日間恒明条件下で栽培し、子葉が出そろった頃に生理暗室内で暗箱を用いて 16 時間または 12 時間の暗期を 1 回だけ与え、再び恒明条件下で約 1 ヶ月栽培した。

## (1) 花芽形成数カウントによる花成強度測定

アサガオの生殖成長相では、1 つの葉腋に対して花芽が 1 つずつ形成される。その花成強度の強さに応じて基部から順に花芽を付ける性質をもつことから、花芽の数を数えることで花成強度の測定が可能である。PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統と野生系統それぞれの花芽の個数を比較することで、PnLEAFY の花成強度への寄与を調査した。

## (2) 形態観察

シロイヌナズナの leafy 欠損体では大量のがく形成以外にも様々な形態異常が見られる。アサガオの PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統でも同様に多様な形態異常が見られることが予想されたので、花芽カウント後の個体を長日条件下で栽培して随時表現型を観察した。

## (3) らせん葉序の観察

シロイヌナズナの leafy 欠損体の大量のがくは、らせん葉序にしたがって形成される。らせん葉序とは連続して発生する 2 つの器官原基が茎頂を中心として 137.5° の位置関係となる発生様式である。PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統の大量のがく形成の花を顕微鏡で観察、角度を測定することで、らせん葉序の有無を確認した。

## 【結果・考察】

## (1) 花芽形成数カウントによる花成強度測定

PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統の花芽形成数は野生型のそれよりも少なくなる傾向が見られた。したがって PnLEAFY はシロイヌナズナの LEAFY と同様に花成の促進因子である。

## (2) 形態観察

先行研究で報告されている奇形花、大量のがく形成、複数の腋芽形成に加えて、花芽・葉芽の共存、対生葉序、花序化したターミナルフラワー、包葉 (花の根元の微小な葉) 肥大、包葉数増加等の多様な形態異常が見られた。このことから PnLEAFY は分裂組織の範囲の限定や、包葉発達の抑制因子として機能する可能性が示唆された。PnLEAFY は花や葉のような側生器官の正常な形態形成に不可欠だと考えられる。

## (3) らせん葉序の観察

PnLEAFY-RNAi 発現抑制系統の大量のがく形成花におけるがく同士の角度は 137.5° に近い位置取りとなったので、らせん葉序であることが示唆された。一方で野生型の正常な花のがくは 144° であるため正五角形の配置となる。したがって PnLEAFY は、らせん葉序の抑制因子でもある。

野生型シロイヌナズナの花はらせん葉序となる部分をもたないため、花器官発生の全期間にわたり LEAFY によるらせん葉序の抑制が効いていると推測できる。しかし、野生型アサガオでは花器官発生初期に形成される本葉・包葉がらせん葉序となることから、PnLEAFY のらせん葉序抑制能は花器官発生初期には比較的弱いことが想像できる。

## 【謝辞】

健康上の都合から一層ご迷惑をおかけしつつも、本研究を行うにあたり終始温かくご指導賜りました本大学院生命環境科学研究科の小野道之准教授、小野公代博士に深く感謝申し上げます。また、昨年 3 月にご逝去された故鎌田博教授に感謝申し上げますとともに心より哀悼の意を表します。