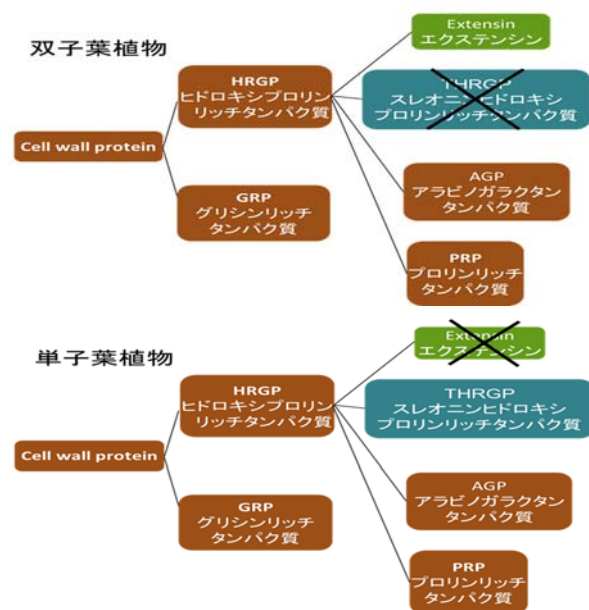


イネの発達過程における細胞壁構造タンパク質 THRGP に関する研究

渡辺 朝美 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 岩井 宏暁 (筑波大学 生命環境系)

背景と目的

植物細胞がもつ細胞壁は、単なる物理的構造の維持だけでなく、成長・発達や生殖といった個体発生のあらゆる面においても重要な働きを持つことが近年明らかになってきている。細胞壁はセルロースなどの多糖類を中心に複雑で多様な構造を持つことが知られているが、そのほかに細胞壁タンパク質と呼ばれる構造タンパク質もまた細胞壁成分のひとつとされている。構造タンパク質の一つに不溶化することで構造強化することで知られるエクステンシンがあげられるが、エクステンシンは双子葉植物のみが持ち、単子葉植物はエクステンシンを持たないことがゲノム配列情報からもわかっている。しかし、単子葉植物においては、エクステンシン同様の不溶化する働きを持つタンパク質の一つにスレオニンヒドロキシプロリンリッチプロテイン(THRGP)が存在する。THRGPは単子葉植物のみが持っている細胞壁構造タンパク質で、トウモロコシでは維管束の発生初期に発現していると考えられている。しかし、その機能や植物体内での分布、発現パターン等などについての報告がほとんどなされていない。そこで本研究では、トウモロコシと比較して様々な解析が可能である単子葉植物のモデル植物イネを用いることとした。イネの OsTHRGP に着目し OsTHRGP RNAi 形質転換体の作出と表現型解析を行った。また、THRGP RNAi の RNA の発現レベルと表現型の相関をと OsTHRGP タンパク質の局在様式についても調査を行った。これらの実験を通して、単子葉植物の発達過程と環境応答における細胞壁構造タンパク質の機能を明らかにすることを目的に研究を行うことで、細胞壁構造タンパク質を通じた細胞壁機能の一端を明らかにできると考えている。



材料と方法

・材料

イネ(*Oryza sativa* 品種: Nipponbare)を用いた。日本の主要な穀物であるイネは全ゲノム配列が解読されており、リソースが豊富などのメリットがあるため単子葉のモデル植物として研究によく利用されている。正常株、ベクターコントロールおよび *OsTHRGP*-RNAi を特定網室において育成させた。

・方法

OsTHRGP の機能を調査するため RNAi 形質転換体を作成した。pANDA vector を使用し、形質転換イネを作出し、独立した形質転換ラインを得た。これらの個体において、成長、分げつや枝梗数、稔実率などの表現型を観察した。

結果と考察

独立した 20 株以上の *OsTHRGP*-RNAi 株を作成し、表現型の解析を行った。ベクターのみを導入したコントロールでは、正常に発達したのに対して、*OsTHRGP*-RNAi では、コントロールや正常株とは異なる表現型が観察された。

OsTHRGP-RNAi では、正常な種子形成が起こらないことで、稔実率が約 40 % に低下していた。また、稔実していた種子について、播種してみたところ、発芽率が低下しており、また発芽したのも正常に生育しなかった。*THRGP* は胚において発現が有するという報告もあることから、*OsTHRGP* が種子の形成に関与しているのではないかと考えられる。現在 *OsTHRGP* 発現レベルと稔実率が相関していた RNAi 形質転換体のラインにおいて再現性を調査している。

次に観察された表現型は、分げつの減少である。分げつはイネの根元付近からの枝分かれしたシュートの事を指すが、RNAi 形質転換体は分げつが少ない傾向があることが観察された。イネの分げつは根元付近にある側部分裂組織で形成されるため、*OsTHRGP* が側部分裂組織に局在しているのではないかと考え、分げつ形成直前の側部分裂組織の縦断面切片を作製し、*OsTHRGP* 抗体で免疫組織化学染色を行ったが、根端への局在は観察されたが、分げつに関わると考えられる側部分裂組織の局在は確認されなかった。また、穂の枝分かれである枝梗数が *OsTHRGP*-RNAi では少なかった。*OsTHRGP* の器官別発現解析では二次枝梗における発現が最も高かったことから、枝梗数の減少に *THRGP* が関与しているのではないかと考えられる。

栄養成長過程においては、*OsTHRGP*-RNAi のラミナジョイントの角度が大きくなっており、折れやすい性質が観察された。ラミナジョイント部分の縦断面切片を作製し細胞の形状や抗体を用いた *OsTHRGP* 局在の観察を行う予定である。

これらの結果より、*OsTHRGP* は側部分裂組織の正常な発達とラミナジョイントの力学的強度の維持、および正常な胚発生過程に重要な役割を持っている可能性が示唆された。