

ジャガイモ近縁野生種における塊茎形成因子フロリゲン様タンパク質の多様性解析

古賀 貴也 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 菊池 彰 (筑波大学 生命環境系)

【背景】

ゲノム上の遺伝子は重複をおこなうことが知られている。重複が起きた遺伝子のコピーは、新たに機能分化、発現性の変化を伴い新しい機能、形質を獲得することがある。植物では花成形成因子として知られるフロリゲンが遺伝子重複によって多数のホモログを生じている。これらフロリゲン様タンパク質はフロリゲン同様に日長変化によって発現するが花成形成とは異なる生理現象を制御することがある。

ジャガイモ (*Solanum tuberosum*) は多くの品種が短日条件下で地中に塊茎を形成するが、その機構は花成形成と非常によく似ている (Navarro et al 2011)。ジャガイモにおける花成形成は花成形成誘導因子のフロリゲンである self-pruning 3D (SP3D) が日長の変化を感じた葉で合成され、茎頂組織に輸送され花成形成に関わる下流遺伝子を発現させることで起こる。ジャガイモにおける塊茎形成では、日長の変化を感じ塊茎形成因子のチューベリゲンである self-pruning 6A (SP6A) を合成され、地下茎に移動した後、フロリゲン同様に遺伝子を発現させることで塊茎形成が起きる。このようにジャガイモではフロリゲンによる花成形成制御のシステムを塊茎形成制御に転用していると考えられる。

SP6A と SP3D は互いにフロリゲンを祖先にもつホモログである。興味深いことにイネフロリゲンである *Hd3a* を過剰発現させたジャガイモでは塊茎と花成を同時に誘導できることが知られている。しかしジャガイモでは SP6A が塊茎形成に、SP3D が花成形成に特化した機能を有している。ジャガイモは通常、短日条件下で塊茎と花成の形成の両方が誘導されるが、早生品種では長日条件下で塊茎形成のみが誘導されることが分かっており両者は独立した制御下で機能していると考えられる。さらにジャガイモの近縁野生種の *S. okadae* は塊茎形成が先に、*S. chillonanum* では花成形成のみが誘導される。このように近縁野生種でも同様に塊茎形成因子と花成形成因子の機能分化、制御分化が起こっているが、両者が同時に誘導される *S. jamesii* も存在する。

制御系の転用過程は、①フロリゲンの遺伝子重複、②塊茎形成と花成形成の独立した制御機能の獲得、③発現誘導性の変化、と言う三つの段階を経て、独立した制御機能に分化して起きたことが考えられる。この仮説もとに近縁野生種のプロリゲン様タンパク質を解析し、①~③の起こった種を捉えたいと考えている。その前段階として本研究ではジャガイモ近縁野生種のもつフロリゲン様タンパク質の遺伝子が塊茎形成因子フロリゲンに近い塊茎形成因子チューベリゲンに近いまたは両者の性質をもつものか解析をおこない、それぞれのもつフロリゲン様タンパク質を型別に分類することを目的としている。

【材料・方法】

研究材料はジャガイモ栽培品種で早生品種であるワセシロ、ジャガイモ近縁野生種である *S. chillonanum*、*S. jamesii*、*S. okadae* の4種を用いた。幅 10.5 cm 深さ 8.5 cm のポットに植

え付け一週間の馴化処理をおこない、長日条件下で 4 週間栽培した。これらの植物の葉を採取し葉中の mRNA を抽出した。得られた mRNA を逆転写し作成したプライマーを用いて増幅しシーケンス比較をおこなった。

SP6A、SP3D の配列比較を近縁種ごとに行うため、National Center for Biotechnology Information (NCBI) のデータベースから栽培品種のジャガイモのゲノムと mRNA の情報をもとにアライメント (図下) を行った。SP6A、SP3D 特異的な配列領域を特定し、両者を区別して増幅可能なプライマー (F/R) の設計を行った。

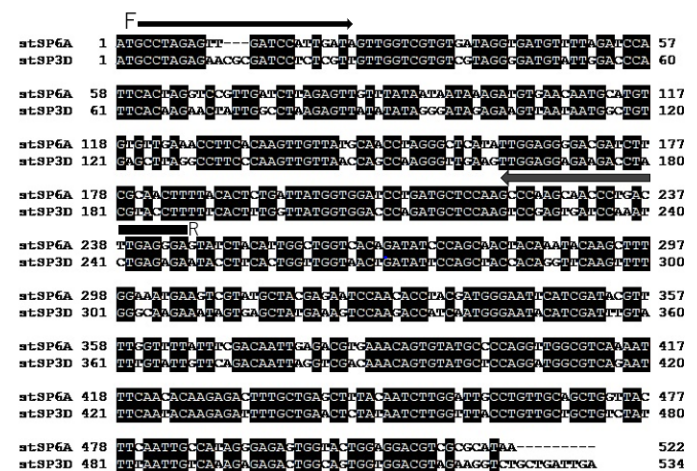


図 フロリゲン様タンパク質の mRNA アライメント解析 SP6A (上段) と SP3D (下段) の配列を比較した。黒塗り部分が相同な配列である。

【結果・考察】

アライメントの結果 (上図)、差異が集中している箇所や SP6A 側に塩基対の欠失 (12~14 番目) がみられた。このように SP6A と SP3D 配列は識別が可能であり、それぞれの遺伝子を増幅するプライマー-F (3~22 番目) と R (244~225 番目) を作成した。作成したプライマーを用いて近縁野生種に対してゲノム PCR を行ったところ異なるサイズのバンドが検出され、作成したプライマーでそれぞれのフロリゲン様タンパク質を増幅させられる可能性が示唆された。このプライマーを使用してジャガイモ近縁野生種の 3 種とジャガイモからそれぞれの因子を増幅し、塩基配列の確認を行った。

既に明らかにされている塊茎形成、花成形成の誘導性とフロリゲン様タンパク質 SP3D、SP6A の塩基配列の違いから、①フロリゲンの遺伝子重複、②塊茎形成と花成形成の独立した制御機能の獲得、③発現誘導性の変化が材料として用いた 4 種のいずれに起こっているのかについての検討を行いたい。

【参考文献】

Navarro et al. *Nature* 478, 119-122 (2011)