

# テンサイ Owen 型細胞質雄性不稔の発現に関わる核遺伝子の発現解析

植物育種科学講座 遺伝子制御学分野

小野 克

テンサイ Owen 型細胞質雄性不稔 (CMS) は、ミトコンドリアゲノム上の CMS 原因タンパク質 preSATP6 の蓄積が引き金となり、ミトコンドリアが機能障害に陥った結果として発現する。テンサイ Owen 型 CMS 株の形態は葯発達における四分子期から異常を示し始め、それ以降の小孢子期や花粉期に至らない。こういった形態異常を示すメカニズムはミトコンドリア機能障害による花粉形成プログラムの攪乱と考えられるが、この背景に存在する分子機構については不明である。テンサイ Owen 型 CMS 株で発現が低下する核遺伝子 (down-regulated genes) を収集した結果、220 個の核遺伝子が CMS 発現に関わっている可能性が考えられたが、それ以上のことはわかっていない。

本研究では、down-regulated genes の詳細な遺伝子発現パターンを決定し、CMS 発現カスケードの上流で機能する遺伝子の探索を行った。時期特異的・組織特異的な発現パターンを調査するため、テンサイ正常株の葯を発達段階に応じて 5 つに分類し、転写産物より cDNA を作製した。down-regulated genes のうち 211 個に対して cDNA マクロアレイハイブリダイゼーションを行い、時期特異的な発現パターンを調査した。その結果、減数分裂期から四分子期という葯発達の初期に全体の約 3 割の遺伝子が発現しており、残りの約 7 割の遺伝子は小孢子期から花粉期に発現のピークを示していた。テンサイ Owen 型 CMS の形態異常が四分子期から見られることから、四分子期より前に CMS 発現システムがすでに稼働していると考えられる。

そこで今回得られた葯発達初期に発現する遺伝子が実際に CMS 発現カスケード上にあるか調査するため、正常株、CMS 株ならびに稔性回復株の減数分裂期葯の cDNA を用いて RT-PCR を行って遺伝子発現を比較した。その結果、CMS 株で発現が確認されない遺伝子が数種類確認できた。また CMS 株で特に発現低下が著しい遺伝子 4 種類について *in situ* hybridization を行ったところ、どれも葯タペート細胞で発現していることが明らかになった。続いて、これらの遺伝子が CMS 発現に直接関与するか調査するため、CMS 株で過剰発現する変異体の作出を試みた。過剰発現を促すプロモーター下流に cDNA 配列を連結した形質転換コンストラクトを作製し、アグロバクテリウムを介してテンサイ CMS の形質転換を行った。