

# 傷害応答性タバコ *Myb* 遺伝子の機能解析

生命分子化学講座 生物化学分野

村上 佑太

## [背景・目的]

植物は生育環境下で起こる様々なストレスを感知し、種々の防御反応を示す。そのひとつである傷害応答は、フェニルプロパノイド経路の活性化やプロテアソームの阻害を引き起こすことにより、虫や草食動物によってうけた創傷を治癒や修復し、また、抵抗性を高めるが、それらの詳細なメカニズムは解明されていない。*myb* 関連遺伝子は植物においても数多く知られ、フェニルプロパノイド経路のキーエンザイムである phenylalanine ammonia-lyase (PAL) 遺伝子の制御などが報告されている。

本研究では、タバコ (*Nicotina tabacum* L.) における傷害応答性 *myb* 遺伝子の体内での役割および関与する経路の特定につながる *myb* 遺伝子過剰発現体を作製し、その機能解析を目的とした。

## [方法]

タバコ *myb* ドメインをターゲットとし、RT-PCR を用いて傷害処理した葉から *myb* ホモログ5種類 (*tmyb1-5*) を単離した。この *myb* ホモログのうち、傷害応答性が認められた *tmyb1, 2, 3* の中から、機能未知の *tmyb2* の形質転換用ベクターを構築するとともに、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens* LBA4404) を用いてタバコ植物への形質転換を行い *tmyb2* の過剰発現体を作製した。また、これを用いて、傷害処理をせずに傷害応答関連遺伝子の発現の様子を RT-PCR により確認し、野生型株と比較した。

## [結果および考察]

過剰発現体として 36 ラインの形質転換体を得たが、不稔であったり、次世代が発芽や生長しないものもあった。*tmyb2* の発現量が十分なものは、表現型において、傷害関連遺伝子の peroxidase アイソザイムの形質転換体と同様に、葉のしおれが見られた。最終的に次世代の種子を採取できたものを過剰発現形質転換体とした。また、この過剰発現体は、RT-PCR により *tmyb2* の増幅がみられたことから、遺伝学的実験においても過剰発現体であることを確認した。しかしながら、形質転換体の解析において、*tmyb2* が発現されているにも関わらず傷害関連遺伝子は野生型株と同様に増幅せず *tmyb2* のみが増幅された。このことから *tmyb2* は傷害応答により誘導されるが、傷害応答の主要経路であるフェニルプロパノイド経路には直接には関連していないと考えられた。また、過剰発現体における表現型がしおれを示したことから peroxidase と関連があると考えられたが、*tpox* 遺伝子の増幅が認められなかったため、他の因子が関与している可能性が示唆された。