

アスパラガスの花器官におけるサイトカイニン代謝酵素遺伝子の発現と単性花形成

生物資源科学専攻 作物生産生物学講座 松山光平

1. はじめに

アスパラガス (*Asparagus officinalis*) の単性花は、雄蕊あるいは雌蕊が未熟な段階で発達を停止することによって形成される。花芽の性発現にはホルモンとの関連が示唆されており、アスパラガスでは、発達初期の雄花のサイトカイニン (イソペンテニルアデニン, 2iP) の量が雌花よりも高いことが報告されているが (Marziani *et al.*, 1990), その後の詳細な報告はない。2iPはイソペンテニル転移酵素 IPT によって 2iP のリボチド (2iPRMP) として合成され、その後, LOG (cytokinin phosphoribohydrolase) により糖リン酸が除かれることによって生成されることが分かっている。一方, 2iP はサイトカイニン酸化酵素/脱水素酵素 (CKX) によって分解され、活性を失う。近年, RNA 解析技術の進歩に伴い、発現している mRNA の網羅的な配列情報を得ることができるようになった。そこで本研究では、アスパラガス RNA-seq データベースを用い、雌花と雄花の発達段階ごとのサイトカイニン代謝酵素遺伝子の発現を調べ、雌雄花器官の発達との関連を調べた。

2. 方法

1) アスパラガスの花や茎で発現している遺伝子の cDNA データベース (Harkess *et al.*, 2015) を用いて、Blast 解析を行い、シロイヌナズナ *IPT*, *CKX*, *LOG* と相同性の高い配列をもつコンティグを抽出した。2) 実験圃場で維持したアスパラガスの雌性株および雄性株から花を採取し、発達段階ごとに分けたのち、雄蕊、雌蕊、花被片に分解し RNA を抽出した。抽出した RNA を用いて cDNA を合成し、目的遺伝子の単離と同定を行った。3) 遺伝子発現の解析は定量 RT-PCR によって行った。

3. 結果と考察

BLAST 解析の結果、*IPT* に相同な塩基配列が 6 個、*CKX* に相同な塩基配列が 6 個、*LOG* に相同な塩基配列が 9 個検索された。それぞれの配列に対応する cDNA をクローニングし、未発達な花から抽出した RNA を用いて定量 RT-PCR による解析を行った。その結果、花では、*AoCKX6* を除くすべての遺伝子の発現が確認された。続いて、花器官ごとに分けて抽出した RNA を用いてそれぞれの遺伝子の mRNA 量を調べたところ、*AoLOG2* と *AoLOG8* が発達初期の雄花の雄蕊で、雌花の雄蕊より、それぞれ約 45 倍と約 10 倍多く含まれていることが分かった。雄蕊の *IPT* と *CKX* に関しては、mRNA 量に 2 倍以上の雌雄間差が検出された遺伝子はなかった。一方、雌蕊から抽出した RNA の比較では、*IPT*, *CKX*, *LOG* のいずれについても、雌花の方が雄花より顕著に含まれているものはなかった。特に、*AoLOG9* は雌花の雌蕊が雄花の雌蕊の 1/10 程度のレベルであった。

以上の結果は、雄花の雄蕊が高いレベルのサイトカイニンを含んでいることを示唆しており、アスパラガスの雄花が高いレベルの 2iP を含むことを明らかにした先行研究と矛盾しない。さらに、アスパラガスの花芽におけるサイトカイニン合成に *LOG* が調節的に働いており、雌花における雄蕊の発達不全は *LOG* 遺伝子の低レベルの発現と関連していることが示唆された。一方、発達初期の雌花雌蕊にサイトカイニンが豊富に含まれていると推察され、それに応じた遺伝子の発現が検出されると期待されたが、検出されなかった。このことから、雄花における雌蕊の機能不全と雌花における雄蕊の機能不全は、異なる仕組みに起因すると推察された。

今後はアスパラガス雄花および雌花における雄蕊の発達と *LOG* の作用との関連を、*LOG* 変異体を用いて確かめる必要がある。同定された *LOG* が酵素活性を示すタンパク質に翻訳されるのかも不明である。組み換えタンパク質などを用いてその確認が求められる。