

研究最前線

寄生植物を用いた植物の器官分化の研究

富山大学理学部生物学科

若 杉 達 也, 多 田 欣 史¹, 古 橋 勝 久^{1, 2}, 山 田 恭 司(¹新潟大学理学部生物学科, ²名古屋産業大学環境情報学部)

植物の形態形成や器官分化は、成長発生の遺伝的プログラムと(光や温度といった)環境要因によって調節されている。植物の形態形成や器官分化には、どのような遺伝子が関わっているか? 環境要因による形態形成の調節はどのような機構によるものか? といった問題について様々な実験系を用いて精力的に研究が進められてきている。我々は、寄生植物のネナシカズラ(*Cuscuta japonica*)を実験材料に用いて植物の器官分化の機構を遺伝子レベルから明らかにしようと研究を行っている。

ネナシカズラはアサガオに近縁な寄生植物で、その名の通り根がなく葉も発達しておらずツル状の形態をしている。ネナシカズラは宿主植物に巻き付き、寄生根という器官を宿主にさし込み、そこから水分や養分を奪い取って成長する。寄生根は寄生植物特有の器官で、化学的あるいは物理的な刺激によって形成が誘導されることが知られている。新潟大学の古橋らは、光と接触という2つの物理的刺激があれば宿主植物がなくてもネナシカズラの寄生根形成が誘導されることを見出し、同調的に寄生根形成を誘導する実験系を開発した^{1)~3)}。ネナシカズラの芽生

えをガラス板で挟み近赤外光を照射すると、ネナシカズラ芽生えは渦巻き状に成長していき、36~48時間後に渦の内側に向かってイボ状の寄生根を形成する(図1)。この寄生根形成を同調的に誘導できる実験系は、植物が器官分化に関わるシグナルを受容してから器官が形成されるまでの過程を分子レベルで調べる上で優れた実験系であると考えられる。

我々は新潟大学のグループと共同研究を開始し、ネナシカズラの寄生根誘導刺激の有無によって発現が変化する遺伝子の単離を行った。近赤外光と接触刺激を与えて寄生根を誘導したネナシカズラ芽生えと接触刺激のみで寄生根が誘導されない芽生えの両者からRNAを抽出し、転写されている遺伝子の違いをDifferential Display法によって調べた(図2)。その結果、図2で見られるように、寄生根誘導刺激で発現が上昇するもの(下方の2つの矢印)と寄生根誘導刺激で発現が低下するもの(上方の2つの矢印)が見出された。これらの遺伝子断片をクローン化し、塩基配列決定を行った後、その発現パターンを詳細に調べた。クローン化された遺伝子の一つに低分子量熱ショックタンパク質遺伝子(CJHSP17)がある。

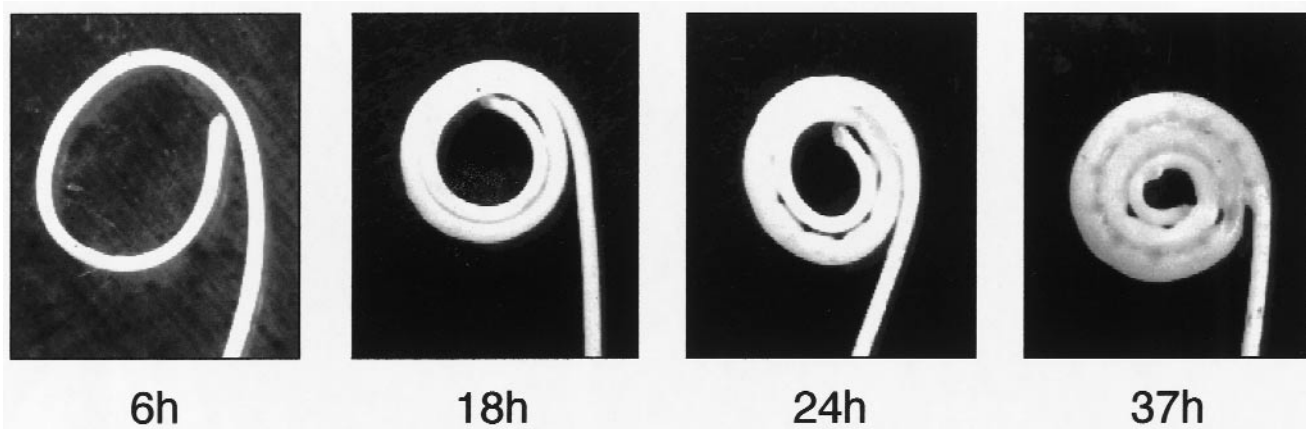


図1 ネナシカズラ芽生えの寄生根形成過程

寄生根誘導処理6, 18, 24, 37時間後のネナシカズラ芽生えの形態。芽生えが渦巻き状に成長していき、渦の内側に向かってイボ状の寄生根が形成される。

寄生根誘導刺激

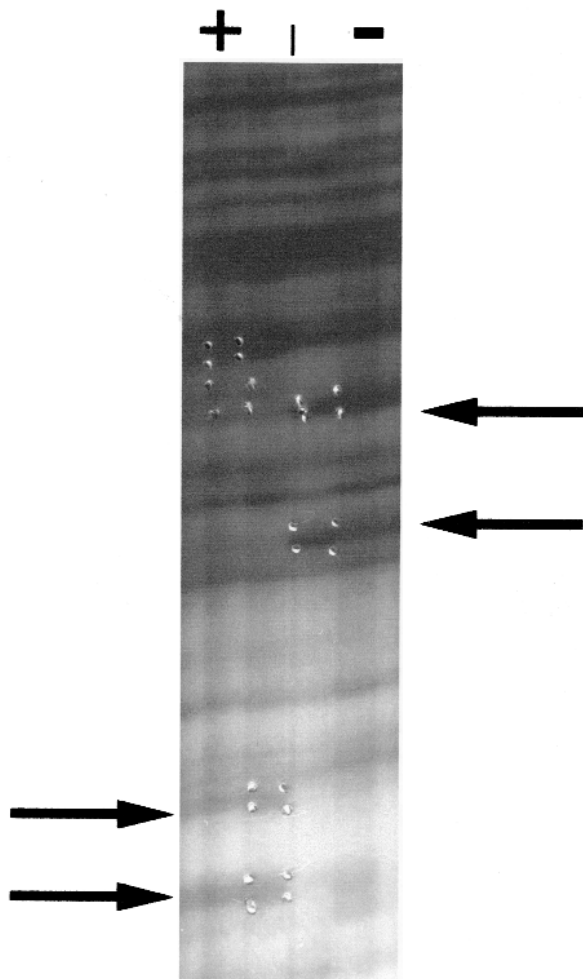


図2 寄生根誘導処理によって発現が変化する遺伝子の検出
寄生根誘導刺激の有(+)無(-)によって発現が変化する遺伝子を Differential Display 法によって調べた結果。矢印は、発現が変化している遺伝子の断片を示す。

CJHSP17は寄生根誘導処理後2時間以内にmRNA量が低下し始め、24時間後にはmRNAがほとんど検出されなくなっている(図3)。近赤外光や接触刺激をそれぞれ単独で与えた場合のように寄生根形成を誘導しない刺激では、CJHSP17の発現低下は見られなかった。このことからCJHSP17の発現低下は、寄生根誘導刺激に特異的であることが明らかになった⁴⁾。このような器官分化に特異的に低分子量熱ショックタンパク質遺伝子の発現が調節されている例は、これまでに報告がなかった。

なぜ寄生根誘導刺激によって低分子量熱ショックタンパク質遺伝子(CJHSP17)の発現が低下するかに

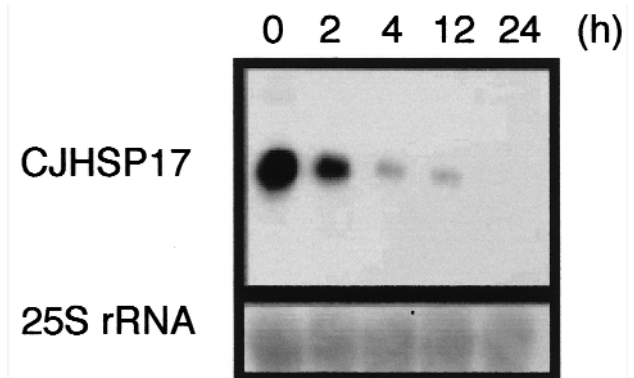


図3 寄生根誘導時の低分子量熱ショックタンパク質遺伝子の発現
寄生根誘導処理後2, 4, 12, 24時間後の低分子量熱ショックタンパク質遺伝子(CJHSP17)の発現をノーザンハイブリダイゼーションにより調べた結果。寄生根誘導処理後すみやかにmRNA量が低下している。

については、二つの可能性が考えられる。低分子量熱ショックタンパク質は、高温や乾燥などの環境ストレスから植物を保護する働きをしていることが知られている。ネナシカズラ芽生えは、根が無いため水分や養分を十分に吸収できない。宿主に寄生できるまでは、水分が不足した状態で生育しなければならないため、低分子量熱ショックタンパク質が働いていると考えられる。しかし、寄生が成立すれば、宿主から水分や養分が供給される状態になり、低分子量熱ショックタンパク質は不必要になる。寄生前の乾燥ストレスにさらされている状態から寄生成立後の状態への生理的な変化に先がけてCJHSP17の発現低下が起きていると考えることができる。もう一つの可能性は、CJHSP17は、ネナシカズラ芽生えでの寄生根形成を抑制しており、CJHSP17の発現低下が何らかの生理的な引き金となって寄生根形成が始まるという可能性も考えられる。これらの二つの可能性については、今後検証していく必要がある。

低分子量熱ショックタンパク質遺伝子(CJHSP17)以外にも、寄生根誘導刺激によって発現が変化する遺伝子が複数得られている。寄生根誘導処理後6～12時間という早い時期に発現が上昇する遺伝子として、DNA合成に関わると考えられている遺伝子が単離されている。また誘導処理後24時間以降に発現が上昇する機能未知の遺伝子も得られている。これらの遺伝子の機能についても現在検証を進めているところである。

寄生根誘導時に発現が変化する遺伝子の解析を進

める一方で、細胞の分裂・伸長などに関わる遺伝子の単離も行っている。寄生根形成過程の形態観察から、寄生根形成の初期には活発な細胞分裂が起こり、引き続いて細胞が伸長し、最後に宿主植物の細胞壁を分解して宿主組織へ侵入するということがわかっている。そこで、細胞分裂、細胞伸長、細胞壁分解に関わるタンパク質の各遺伝子をネナシカズラから単離して、それらの遺伝子の寄生根形成過程における発現変化を調べた。その結果、寄生根誘導処理後6～12時間でDNA合成に関わる遺伝子が発現し、ついで18～24時間の段階で細胞分裂に関わる遺伝子の発現が上昇することがわかった。細胞伸長に関わる遺伝子は、誘導処理後24時間頃から発現が上昇し、細胞壁分解に関わる遺伝子の発現は、誘導処理後36時間という宿主に進入する直前の段階で急上昇することも明らかになった。

以上のように、寄生根誘導処理後から寄生根が形成されるまでの過程で起きる現象を、遺伝子レベルで記述できるようになってきた。今後は、各遺伝子の発現がどのように調節され統御されているか調べると同時に、寄生根誘導時に発現が変化する遺伝子をさらに調べ、寄生根誘導に直接的に関わっている遺伝子を探し出していくことによって、ネナシカズ

ラの寄生根形成の分子機構を明らかにしていきたいと考えている。

文献

- 1) Furuhashi, K.: Establishment of successive culture of an obligatory parasitic flowering plant, *Cuscuta japonica*, *in vitro*, *Plant Sci.*, **79**, 241-246 (1991)
- 2) Tada, Y., Sugai, M. and Furuhashi, K.: Haustoria of *Cuscuta japonica*, a holoparasitic flowering plant, are induced by a cooperative effect of far-red light and tactile stimuli, *Plant Cell Physiol.*, **37**, 1049-1053 (1996)
- 3) Furuhashi, K., Tada, Y., Okamoto, K. et al.: Phytochrome participation in induction of haustoria in *Cuscuta japonica*, a holoparasitic flowering plant, *Plant Cell Physiol.*, **38**, 935-940 (1997)
- 4) Tada, Y., Wakasugi, T., Nishikawa, A. et al.: Developmental regulation of a gene coding for a low-molecular-weight heat shock protein during the haustorium formation in the seedlings of a holoparasitic plant, *Cuscuta japonica*, *Plant Cell Physiol.*, **41**, in press