

ポプラの開芽・開葉期における個葉の細胞分裂と

細胞分裂に関連する遺伝子群の発現特性

○高橋 信行・斎藤 秀之・渋谷 正人・高橋 邦秀(北大院農)

【はじめに】

個葉サイズは環境条件の影響を受けて変化することが知られている。個葉サイズは、個体の総葉面積を決定する要因の一つであるため、その変化は、樹木の光合成生産量やストレス耐性などにおいて重要なはたらきを持つ。したがって、樹木の成長に対する環境条件の影響を理解するためには、野外における個葉サイズの調節過程の解明が必要である。

野外に生育する高等植物の個葉サイズの変異は、細胞分裂の回数により規定される場合が多く、個葉サイズの調節過程を明らかにするためには、細胞分裂に関連する遺伝子群の発現特性の解明が重要である。モデル植物では、サイクリンが細胞分裂の調節に重要な役割を果たし、細胞分裂頻度を律速していることが知られている。また、サイクリンと共に細胞分裂を支配するタンパク質群があることが知られている。さらに、サイクリンの遺伝子発現はサイトカイニンの調節を受けることが知られている。

本研究では、野外に生育するクロポプラの発達段階の異なる個葉のサイズと細胞のサイズを調べることで細胞数の変化を推定し、個葉の発達にともなう細胞分裂頻度を明らかにするとともに、サイクリンを中心とした細胞分裂に関連する遺伝子群の mRNA 量を定量し、これらの遺伝子群の発現と細胞分裂頻度との関連性について明らかにすることを目的とした。

【材料と方法】

供試木は北大構内に生育するクロポプラ (*Populus nigra*) である。供試葉の採取は発達段階の異なる 5 つの時期、冬芽期 (4/6)、開芽期 (5/6~5/9)、開葉中期 (5/11~5/14)、開葉最終期 (5/25~5/28)、開葉終了後 (8/31~9/3) に行った。採取は、それぞれ 1 日 3 回、午前、午後、深夜、に行った。クロポプラの個葉の細胞数は、葉身長を計測後に共焦点レーザー顕微鏡を用いて柵状細胞の直径を調べ、葉身長を細胞直径で除して推定した。全 RNA の抽出には CTAB 法を用いた。調べた遺伝子は、細胞分裂を制御する遺伝子としてサイクリン遺伝子 (*CycA*, *CycB*, *CycD*)、サイクリンとともに細胞分裂を調節する機能が知られる *CDKB*, *CDK1*, *CDK* 調節サブユニット、*cdc48*, *CAK* の遺伝子、さらに *cycD* の発現を支配すると考えられているサイトカイニンの合成酵素遺伝子とサイトカイニン合成酵素遺伝子の発現を抑制する遺伝子である。プライマーに設計にあたっては、PopulusDB (<http://poppel.fysbot.umu.se/>) にある *P. tremula* × *tremuloid* の既知の塩基配列を用いた。細胞分裂に関連する遺伝子群の mRNA 量は、LightCycler (Roche) を用いて real-time-PCR 法で定量した。

【結果と考察】

開芽期から開葉中期および開葉中期から開葉最終期にかけて細胞数の増加が大きかったことから、細胞分裂頻度はこれらの時期に高いと考えられる。サイクリン遺伝子 (*CycA*, *CycB*, *CycD*) の発現量は、開芽期と開葉中期に多く、冬芽期・開葉最終期・開葉終了後では発現量が少なかった。細胞分裂の盛んな時期にサイクリン遺伝子の mRNA 量が多かったことから、これまでのモデル植物の知見と同様に、野外で生育するクロポプラの場合にも、サイクリン遺伝子が細胞分裂の過程で重要なはたらきを持ち、細胞分裂頻度に影響を与えていると考えられた。サイクリンと共に細胞分裂を支配するタンパク質群の遺伝子やサイトカイニン合成酵素遺伝子でも、開芽期と開葉中期に多く発現がみられ、サイクリン遺伝子と協調的に発現して細胞分裂に影響を与えていることが示唆された。*CDK* 調節サブユニットとサイトカイニン合成酵素では、開葉最終期と開葉終了後においても発現量が認められ、これらの遺伝子の発現は細胞分裂頻度を強く制御しているとは考えられなかった。サイトカイニン抑制酵素遺伝子の発現量は、細胞分裂頻度と関連していなかったため、細胞分裂頻度の調節とは関連しないことが示唆された。

(問い合わせ: 高橋信行、pan-ya@for.agr.hokudai.ac.jp)