

アクティベーションタギングと 葉緑体機能発現

後藤新悟・丹羽康夫・小林裕和

レポーター遺伝子導入シロイヌナズナ系統の脱分化カルスにアクティベーションタギングを適用することにより、植物個体を経ないで直接変異系統を選抜することが可能になり、いままでにない新奇な葉緑体機能発現変異系統の選抜に成功した。

▶▶ KEY WORDS : レポーター遺伝子 アクティベーションタギング 葉緑体機能発現

はじめに

遺伝子の機能を解明するうえで、変異誘導を基盤にする遺伝学的解析は強力な方法である。DNA断片の挿入によるタギング法は、薬剤や放射線による変異誘導に比べて、変異遺伝子の特定が容易である。DNA断片の挿入により劣性変異が期待されるが、エンハンサーを含むDNA断片を用いることにより、遺伝子が活性化された優性変異が可能なる。この方法は、アクティベーションタギングとして、1992年にWaldenらによりタバコに活用された¹⁾。その後、シロイヌナズナを用いて、各種タグ系統が作製され、2000年にはWeigelらによって30以上のアクティベーションタギング優性変異系統が選抜されている²⁾。

I. 器官特異的な葉緑体機能発現

植物の特徴は独立栄養生長であり、この性質は植物細胞の葉緑体の機能に起因する。光応答がおかしくなった変異系統を用いた研究により、フィトクロム³⁾、青色光受容体であるクリプトクロムおよびフォトトロピン⁴⁾を光受容体とするシグナル伝達機構の解明の進展が著しい。しかしながら、器官特異的な葉緑体機能発現の制御機構に関する知見は乏しい。筆者らの研究室では、1991年より、シロイヌナズナを用い、核コード光合成遺伝子の器官特異的な発現が異常になった各種変異系統の選抜を開始した。まず、光合成遺伝子プロモーターの制御下に各種レポーター遺伝子をおいたシロイヌナズナ形質転換系

統を作製した。次に、変異系統を選抜する1つの方法として、アクティベーションタギングを活用し、脱分化カルスにおいて光合成遺伝子が発現するようになった変異系統 *ces* (*callus expression of RBCS*) を選抜した。

II. アクティベーションタギング

光合成核遺伝子発現の指標として、リブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ (Rubisco) のSサブユニット遺伝子 (*RBCS-3B*) に着目し、このプロモーターの下流に薬剤耐性遺伝子であるハイグロマイシンBホスホトランスフェラーゼ遺伝子および、レポーター遺伝子であるβ-グルクロニダーゼ (GUS)*1 遺伝子を配したキメラ遺伝子をアグロバクテリウムを用いてシロイヌナズナに導入した。この系統の根およびカルスはハイグロマイシンBに感受性であり、GUS活性をもたない。一方、葉など光合成遺伝子が発現している器官は、GUS活性を有した。このレポーター遺伝子導入シロイヌナズナにアクティベーションタギングを適用した。

振とう培養により増やしたレポーター遺伝子導入シロイヌナズナ系統の根に、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 35Sプロモーター由来のエンハンサー領域を4回反復させたコンストラクトをアグロバクテリウム法により導入した (図1)。上記レポーター遺伝子導入シロイヌナズナ系統には、その作製の過程においてすでに複数の薬剤耐性遺伝子が導入されているため、新規な選択マ

Shingo Goto, Yasuo Niwa, Hirokazu Kobayashi, 静岡県立大学大学院生活健康科学研究科 食品栄養科学専攻 E-mail: hirokoba@u-shizuoka-ken.ac.jp <http://sfns.u-shizuoka-ken.ac.jp/pctech/>

Activation tagging to reveal regulation underlying the development of photosynthetic chloroplasts

