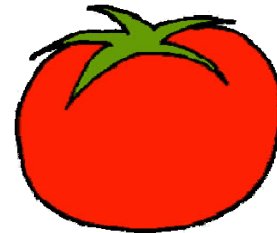


トマトの葉形成とオーキシン

はじめに

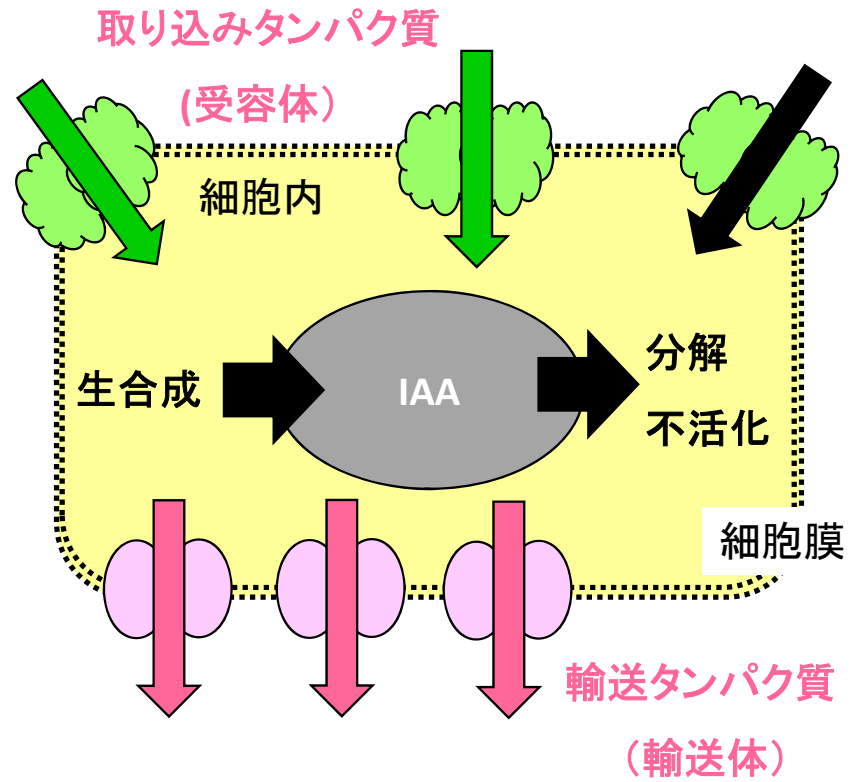
以前「オーキシンの局在化が芽をつくる」ことを紹介しました（平成25年11月号 pp24-25）。最近、**トマト**でも研究が進んでいます。



オーキシン含量を決めるもの

植物体にある天然オーキシンの1種であるインドール3-酢酸 (IAA) は、まず生合成や分解、不活性化によって含量が制御されます。

さらに各細胞のオーキシン含量は、細胞内へオーキシンを取り込むタンパク質(受容体)と、細胞外へオーキシンを排出していく(輸送する)タンパク質(輸送体、輸送タンパク質)によって調整されます(次図)。



細胞内のオーキシン(IAA)量

トマト変異体

シロイヌナズナでは、**輸送タンパク質によりオーキシンが茎頂に集まり、中央の分裂組織周りに葉原基が誘導される**ことが明らかにされています(下図)。葉原基は発達すると葉になります。

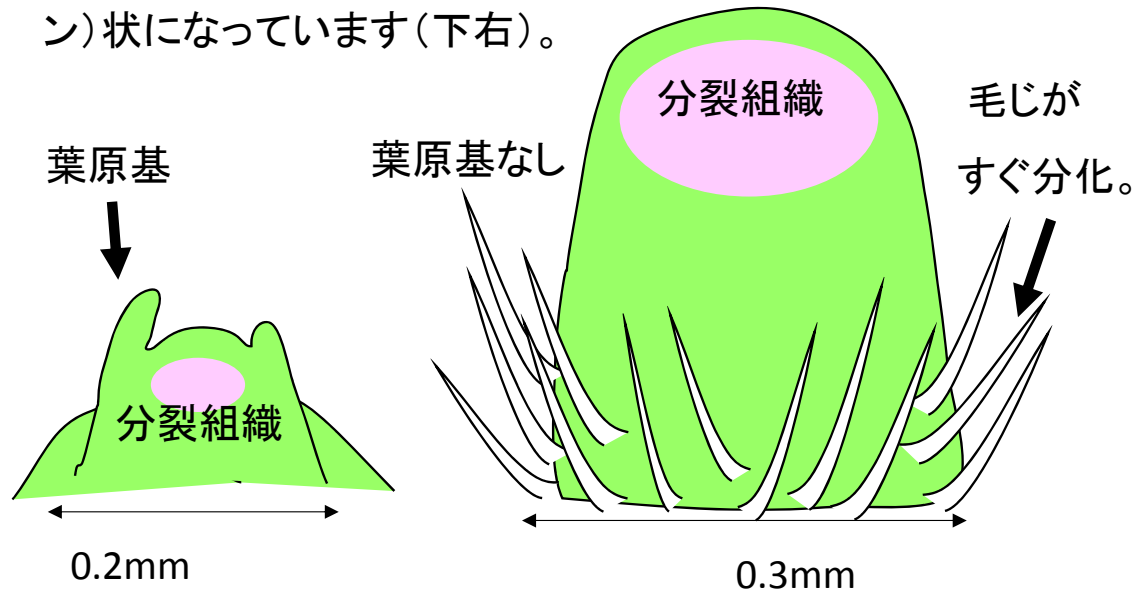
今回は、そのどこかに不具合が生じ、葉原基ができず、**葉ができないトマト変異体(leafless, *lfs*)**研究を紹介します(PNAS vol.114, pp3246-3251, 2017)。



茎頂の分裂組織と葉原基

トマトの茎頂と葉原基

正常なトマト野生株の茎頂にも分裂組織があり、葉原基がその周囲に規則的に作られます(下左)。しかし葉ができない(*lfs*)変異体の茎頂には分裂組織があるだけで葉原基はなく、先の丸い針(ピン)状になっています(下右)。



オーキシンの輸送阻害で葉ができないトマト

ところで、シロイヌナズナ植物体にオーキシンの輸送を阻害する試薬(輸送阻害剤)を塗布すると、葉がつくられず、針状の茎頂になることが報告されていました。

同じ処理によって、トマト幼植物体においても葉原基のない針状の茎頂が得られました。これが、葉ができないトマト(*lfs*)変異体の原因究明のためのヒントを与えることとなります。

阻害剤はラノリンという軟膏のような油に混ぜて塗布されています。ラノリンは古くから使われており、筆者も懐かしく感じました。

茎頂での遺伝子発現の比較

正常なトマト茎頂と、葉ができない(lfd)変異体およびオーキシシン輸送阻害剤により葉ができない茎頂という3つの材料で、茎頂での遺伝子発現の様子が調べられました。

正常なトマト茎頂では、分裂を誘導する植物ホルモンであるサイトカイニンに関わり、**分裂のマーカ**となる**ことが知られている遺伝子**が、表層2層を除く中心部で強く発現し、その周囲の葉原基では**葉原基のマーカ**遺伝子が発現していました。

しかし葉ができない(*lfs*)変異体の茎頂では分裂マーカ―遺伝子はより広範に発現し、葉原基マーカ―遺伝子の発現は不規則でした。

オーキシン輸送阻害剤による針状の茎頂では、両遺伝子ともに発現が弱いことがわかりました。

つまり、葉原基ができない茎頂では、分裂マーカ―と葉原基マーカ―ともに正常に発現していないことが確認されました。

茎頂のオーキシンの分布

次に、茎頂でのオーキシンの分布を調べてみました。オーキシンは顕微鏡で見えませんので、オーキシンにより蛍光を発する遺伝子を導入し、間接的に分布がみえるようにしました。

その結果、正常なトマト茎頂では葉原基のでき始めや葉原基にオーキシンが局在する様子が観られました。しかし、**葉ができない (*lfs*) 変異体の茎頂ではオーキシンは広く散在し、輸送阻害剤による茎頂では蛍光がはっきりせず、いずれも異常な分布をしていることが示されました。**

このような観察は、**蛍光をシート(平面)状にあてて観察される像を統合して3D映像にできる最新の顕微鏡**により行われました。

低分子であるオーキシンが、茎頂というごく小さな植物組織内でどのように立体的に分布しているかを「みる」ことができるとは、ほんとうにすごいことだと思います。

オーキシンの微小処理

さらに、昔から使われている実験手法ですが、**ラノリン塗布**も活躍します。茎頂分裂組織という極小部位にIAAを混ぜたラノリンを塗布したのです。その結果、輸送阻害剤により誘導された針状の茎頂では葉原基がつくられましたが、*ifs*変異体では葉原基はできませんでした。

ところで、野生株および変異体の幼植物体の胚軸部分にIAAを塗布すると、ともにIAAに反応して塗布側が伸長成長し、曲がりました。

これまでの結果を総合すると、**葉ができない(*ifs*)変異体は、IAAに対する反応性(感受性)はもっているが、IAA輸送に不具合があり、茎頂に正常に分布できず葉原基ができないと考えられます。**

原因遺伝子の単離

次いで葉ができなくなる(*lfs*)変異の原因遺伝子(*LFS*遺伝子)も単離されました。シロイヌナズナの「眠り姫」遺伝子と近い配列をもっていました。

*LFS*遺伝子は、葉原基ができ始める部位に一時的に発現していました。また、オーキシン輸送阻害剤でつくった針状の茎頂にオーキシンを塗布すると塗布後1時間で茎頂での発現が増加し始め、6時間で茎頂分裂組織の中央に強く発現しました。つまりこの遺伝子は、オーキシンにより速やかに発現が誘導されました。

*lfs*変異を回復させる

しかし、正常な*LFS*遺伝子の構造配列部分にオーキシンで誘導される調節領域をつないだ遺伝子を作って変異体に導入しても、子葉と、小葉のない本葉が1, 2枚しかできませんでした。変異を完全に回復するには、まだなにか足りないようです。

後は、続報のお楽しみです。

今後

葉原基分化に関連して、新旧いろいろな実験手法でオーキシンの作用が研究されています。外野からですが、興味深く報告を読んでいます。