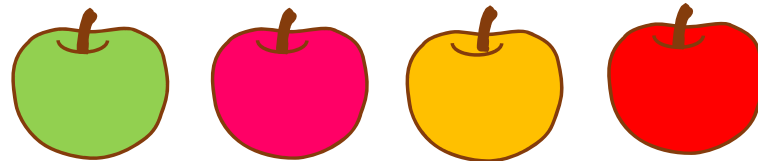


甘いリンゴとアブシジン酸

はじめに

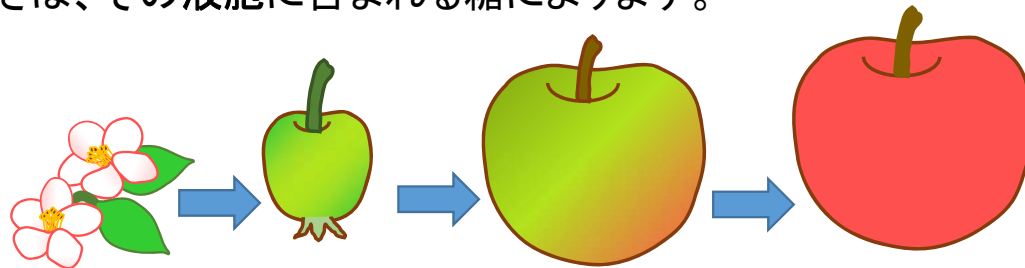
秋にずらりと多くの品種が揃うリンゴは、温州みかんやブドウと並ぶ生産量を誇る果物です。世界的にも重要であり、果実の成熟に伴う糖やアブシジン酸の研究材料として、古くから用いられてきました。

アブシジン酸は、老化や成熟、あるいは乾燥や低温、高温、塩害など生育に適さない状態で働く植物ホルモンです(60巻13号、no.43)。



果実の成熟と糖、アブシジン酸

リンゴ果実は、受粉から約一ヶ月は細胞分裂により大きくなり、その後は主に細胞内の液胞という器官が大きくなり肥大します。液胞は、膜で仕切られた細胞内の貯蔵器官です。リンゴ果実の甘さは、その液胞に含まれる糖によります。



細胞分裂 液胞肥大 液胞に糖蓄積

成熟とともに、エチレン・アブシジン酸も増加

果実の成熟と共に糖含量と、成熟を誘導する植物ホルモンであるエチレン、そしてエチレンを誘導する植物ホルモンであるアブシジン酸含量も増加します

(J.Japan.Soc.Hort.Sci.60,pp505-511, 1991)。

果実の糖含量を増加させるためアブシジン酸がどう関与しているのか、興味をもたれていました。そのしくみの一端として、今回紹介する論文では、アブシジン酸が液胞への糖の取り込みを促進することが遺伝子レベルで明らかにされました(Plant physiol. Vol.174, pp2348-2362, 2017)。

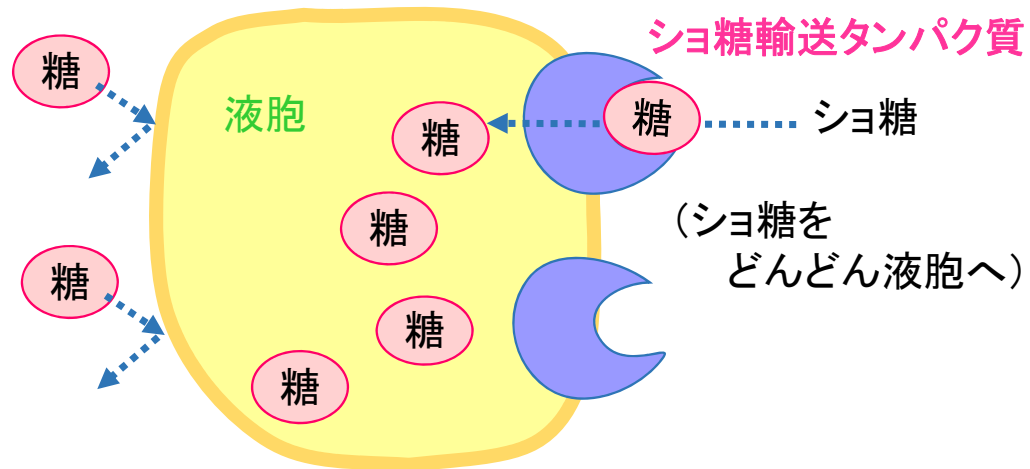
糖の移動と蓄積

光合成によりつくられたブドウ糖は、主にショ糖となって維管束内を通り、植物体の他の部位へ移動します(転流)。ショ糖より少量ですが、リンゴの蜜となるソルビトールも維管束を転流します(62巻13号、no 60)。

転流後、細胞内へ取り込まれた糖は、他の代謝に影響を与えないように、液胞内に隔離、蓄積されます。

ところで糖を始めとする多くの物質は細胞膜や液胞膜を素通りせず、膜にあるタンパク質でできた出入り口通らなければなりません。

そのような出入り口となるタンパク質は、**輸送タンパク質**（あるいは受容体等）と呼ばれます。輸送タンパク質は物質毎に決まっており、遺伝子の発現によりつくられます。



リンゴの糖輸送タンパク質遺伝子の候補

すでに他の植物で糖類輸送タンパク質遺伝子がクローニングされ、遺伝子データベース(BLAST、ブラスト)に登録されていました。またリンゴゲノムDNAライブラリーもすでにありました。

そこで、**既知の糖類輸送タンパク質の塩基配列と類似した配列をリンゴゲノムから探すことにより、9個の遺伝子候補が得られました。**



候補遺伝子から本命を選ぶ実験

9個の候補遺伝子から本命を選ぶ際には、植物組織培養を利用しました。

人工培地上でリンゴの枝先(シュート)を無菌的に培養する際に培地にアブシジン酸を添加すると、シュートについている葉のデンプンが半減し、ブドウ糖とショ糖含量が3~4割増加しました。つまりこの簡単な(とっては失礼ですが)シュート培養系で、アブシジン酸によりショ糖が増加するという現象が再現されました。

その時、9つの候補遺伝子の中で、単糖輸送タンパク質遺伝子候補の*MdTMT1*と、ショ糖輸送タンパク質遺伝子候補の*MdSUT2*の発現量が増えていました。これで、候補が2個に絞られました。

シヨ糖輸送タンパク質の遺伝子の調節領域

2個のうち、シヨ糖輸送タンパク質遺伝子 (*MdSUT2* 遺伝子) に関して、引き続き実験を行いました。

遺伝子には、遺伝子の発現を調節する領域と実際にタンパク質になる(翻訳される)領域があります。元々の調節領域の代わりに輸送タンパク質が過剰発現する調節領域をつないでリンゴに導入し、この遺伝子がシヨ糖含量を増加させること確認しました。

さらに *MdSUT2* 遺伝子調節領域には、アブシジン酸に反応するという報告のある塩基配列と類似の配列がみられました。その塩基配列を変えた、いわば変異遺伝子をウイルスベクターによりリンゴに導入し、アブシジン酸による誘導が起こらないことも示されました。

調節領域に結合するタンパク質

次いで、この調節領域のコアとなるDNAと、リンゴの核タンパク質(抽出物)とを混合させ、ゲル電気泳動を行いました。もしコアDNAと核タンパク質中のいずれかが結合していれば、ゲルの移動が遅くなります。こうして、DNAと結合するタンパク質を見いだすのが、ゲルシフトアッセイという実験法です。

この実験で、コアDNAと結合する核タンパク質が見事同定され、これがシロイヌナズナのアブシジン酸を受容するタンパク質と似ていることもわかりました。

こうしてアブシジン酸が、アブシジン酸受容タンパク質を誘導し、そのタンパク質が*MdSUT2* 遺伝子の調節領域に結合して発現を誘導し、液胞膜のショ糖輸送タンパク質が増え、液胞のショ糖が増加するという流れが明らかになりました。

アブシジン酸



アブシジン酸
受容タンパク質



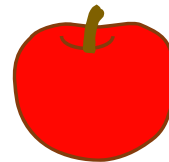
ショ糖
輸送タンパク質



液胞の
ショ糖増加



甘いリンゴ

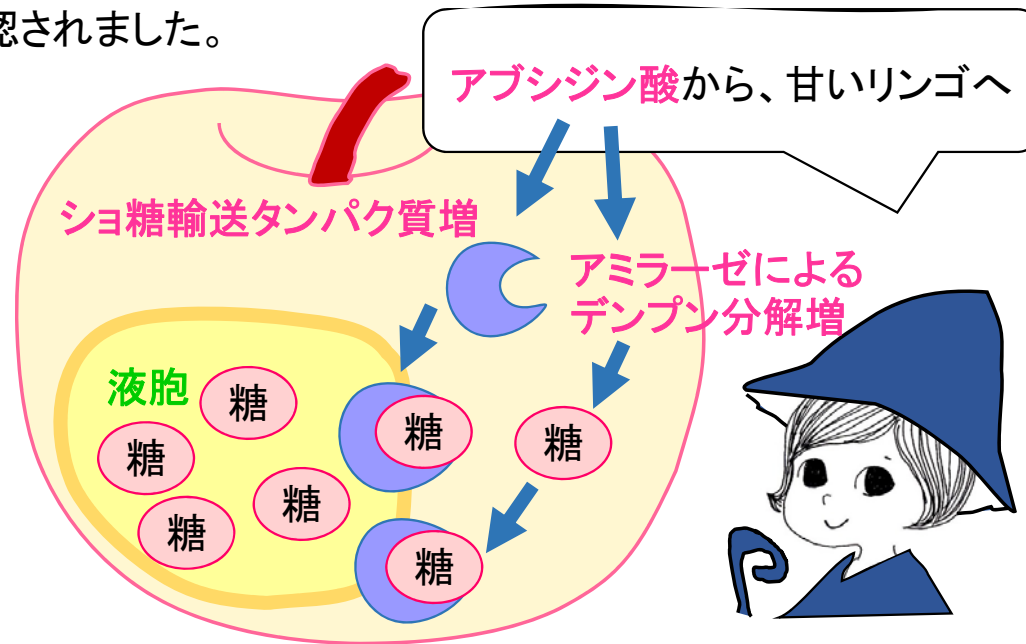


デンプンの分解

追加ですが、デンプンはアミラーゼという酵素により消化されて糖になります。そのアミラーゼ遺伝子も、糖輸送タンパク質遺伝子同様、塩基配列検索でリンゴゲノムから見いだされました。

そして同様に**アブシジン酸により発現が活発になり、糖を増加させる**ことが示されました。

リンゴ果実においても、このアブシジン酸によるデンプンの減少と前述の輸送タンパク質遺伝子の発現促進、糖の増加が確認されました。



今後

こうして、シロイヌナズナを中心とする遺伝情報が他の作物の現象を明らかにしています。さらに品種間差など比較し、今後育種へも活用されることと思います。

