

発生生物学研究部門（客員研究部門）

中 村 研 三

平成7年10月より、前任の岩淵雅樹教授の後を受けて当客員部門を担当しています。近かったこともあって、それまでも基生研の先生方とのお付き合いがあり、志村令郎先生の客員部門の客員助教授をさせていただいた時期に、現京都大学教授の岡田清孝先生に刺激されてシロイヌナズナを使った遺伝学的アプローチを取り入れるきっかけを作っていただき、その前後にも個別共同研究を利用して技術部の服部、梶浦両氏にはタンパク質のシーケンスでお世話になり、岩淵先生や西村先生にもお世話になっていました。当部門を担当するようになってから、三重大学遺伝子実験施設の服部東穂氏に客員助教授をお願いし、カリフォルニア大学デービス校に留学中であった大藤雅章君に助手として赴任してもらい、更に研究室の多少の手直しなどをして、名古屋大学農学部の実験室の大学院学生さん達と共に実質的な研究活動を開始したのは次の年の4月からになります。

基生研では、糖に応答した遺伝子発現制御に関わる制御因子の解析やシロイヌナズナ遺伝学を取り入れた解析の一部を進めると共に、新しい研究方向として糖応答性遺伝子発現が個体生長過程において果たす役割をシロイヌナズナ突然変異株を使って明らかにしていきたいと考えています。内容を異にしますが、植物液胞へのタンパク質選別輸送機構の解析についても、基生研の先生方との接点を探りつつ進めています。

植物体内で糖の供給を受けて貯蔵物質を集積するシンク部位で働く遺伝子に糖によって発現が誘導されるものが、また糖を送り出すソース部位で働く光合成系遺伝子のように糖によって発現抑制を受けるものが知られるようになり、体内での糖の分配と転流は遺伝子発現パターンを変動させることで、植物個体の柔軟な生長様式を支える重要な要因の一つとの認識が深まっています。糖による遺伝子発現制御の主たるものは代謝シグナルを介したもので、同様の制御は他の種々の生物にも見られますが、その分子機構はまだほとんど明らかになっていません。また、植物では糖の availability は個体の形作りにも大きく作用しますが、糖に応答した遺伝子発現制御がそこにどう関与しているかはまだ全く分かっていません。

シロイヌナズナの β -アミラーゼ遺伝子 (*ATb-Amy*) も糖代謝シグナルの制御下にある遺伝子で、種々の体細胞組織で高濃度の糖の供給によってその発現が誘導されます。*ATb-Amy* の葉での糖にตอบสนองした発現誘導には転写開始点上流の-172 から-61 の配列が必須で、かつこの配列は CaMV 35S 基本プロモーターに糖誘導性を付与します。リンカースキャニングから、この配列には変異によって発現レベルが著しく低下する正の制御エレメントと変異によって未処理葉での発現が糖誘導処理をした葉のレベルまで高くなる負の制御エレメントの2つが隣接して存在することが明らかになり、

ATb-Amy の糖による発現誘導には脱抑制メカニズムが関与することが示唆されました。一方、低濃度の糖存在下での *ATb-Amy* の発現レベルが増加して見かけ上高感受性の発現パターンを示す変異株 *hba1* を単離しています。*HBA1* は糖濃度があるレベルに達するまで *ATb-Amy* の発現を低く抑えておく機構に関与していると推定していますが、劣性変異である *hba1* の影響が現れるためには *ATb-Amy* の転写開始点上流の-172 から-310 までの配列が必要であることが分かりました。5'上流を-172 まで短縮したプロモーターは野生株の中で、-310 より長い上流配列を持つ融合遺伝子が *hba1* 変異株において示すのと同様に、低濃度の糖に対して高い応答性を示しました。このように植物の糖による遺伝子発現誘導に、負の制御からの脱抑制が重要な役割を占めているということを始めて明らかにすることができたのがこの1年の収穫の一つです。

これまでに同定した変異株には *ATb-Amy* の発現の糖に対する応答のみならず、体づくりにも影響を受けるものがあります。シロイヌナズナ個体生長における糖の availability に対する種々の形態応答を調べ、エンハンサーを組み込んだ T-DNA ベクターによるアクティベーションタギングラインの作成を進め、既存の T-DNA タギングラインと共に新しい突然変異株をスクリーニングする体制が整ってきました。

近いとはいえ、なかなか進んで基生研で研究をしたいという学生さんは少ないなど、当初の思い通りには進みませんが、折角のこの機会に新しい研究の方向を生み出し、また基生研に多少なりとも貢献ができるようにしたいと念じています。

参考文献

1. Kimura, T., Nakamura, K., Kajiura, H., Hattori, H., Nelson, N. and Asahi, T. (1989) Correspondence of minor subunits of plant mitochondrial F1ATPase to F1F0ATPase subunits of other organisms. *J. Biol. Chem.* 264, 3183-3186
2. Akama, K., Shiraishi, H., Ohta, S., Nakamura, K., Okada, K. and Shimura, Y. (1992) Efficient transformation of *Arabidopsis thaliana*: comparison of the efficiencies with various organs, plant ecotype and *Agrobacterium* strains. *Plant Cell Reports*. 12, 7-11
3. Ishiguro, S., Tanaka, M., Kojimoto, A., Kato, M., Iwabuchi, M. and Nakamura, K. (1993) A nuclear factor that binds to a dyad symmetric sequence with CGTCA motif in the 5'-upstream region of sweet potato β -amylase gene. *Plant Cell Physiol.* 34, 567-576
4. Takeda, S., Kowiyama, Y., Takeuchi, Y., Matsuoka, K., Nishimura, M. and Nakamura, K. (1995) Spatial patterns of sucrose-inducible and polygalacturonic acid-inducible expression of genes that encode sporamin and β -amylase in sweet potato. *Plant Cell Physiol.* 36, 321-333
5. Ohto, M., Hayashi, K., Isobe, M. and Nakamura, K. (1995) Involvement of Ca^{2+} -signalling in the sugar-inducible expression of genes coding for sporamin and β -amylase of sweet potato. *Plant J.* 7, 297-307
6. Mita, S., Murano, N., Akaike, M. and Nakamura, K. (1997) Mutants of *Arabidopsis tha-*

liana with pleiotropic effects on the expression of the gene for β -amylase and of the accumulation of anthocyanin that are inducible by sugars. Plant J., in press.

7. Mita, S., Hirano, H. and Nakamura, K. (1997) Negative regulation involved in the expression of a sugar-inducible gene in *Arabidopsis thaliana*; a recessive mutation causing enhanced expression of a gene for β -amylase. Plant Physiol., in press.
8. Koide, Y., Hirano, H., Matsuoka, K. and Nakamura, K. (1997) The N-terminal propeptide of the precursor to sporamin acts as a vacuolar targeting signal even at the C-terminus of the mature part in tobacco cells. Plant Physiol., revised.