

植物の細胞死誘導因子のスクリーニングと機能解析

高橋 芳弘

(東北大学大学院生命科学研究科・分子応答制御分野)

現在、シロイヌナズナ、イネの全ゲノム配列が決定し、植物の遺伝子数は数万個であることが報告されているが、それらの遺伝子の機能はごく一部についてしか解明されていない。そこで我々は、植物の病原体に対する耐性機構の解明、特に、病原体が感染した際に感染部位特異的に引き起こされる現象である細胞死のメカニズムを調査するため、植物遺伝子を一過的に過剰発現させた際に細胞死を引き起こす因子の大量機能的スクリーニングを行った。

具体的には、タバコ及びベンサミアナタバコから作製した cDNA ライブラリーを、植物ウイルス *Potato virus X* (PVX) のレプリコンが挿入されたバイナリーベクター pSfinx にクローン化した。pSfinx ベクターは、植物形質転換用の T-DNA 領域のレフトボーダー (LB) およびライトボーダー (RB) 配列間の PVX 配列中に外来 cDNA を挿入することができる構造をもつ。pSfinx ベクターを保有する *Agrobacterium* をタバコ属植物の葉に接種すると、LB と RB の間の T-DNA 領域が植物核ゲノム中に挿入され、その後、PVX レプリコン上流のプロモータの作用で PVX ゲノムが転写され、細胞内で PVX ウイルス粒子が形成され増殖すると同時に挿入 cDNA 配列の遺伝子産物が大量に生産される。このメカニズムを利用し、各クローンをタバコ及びベンサミアナタバコの葉身に爪楊枝によって接種し、各遺伝子を一過的に強発現させて形質を評価した。

我々は、このライブラリーから数万クローンを爪楊枝によってタバコ及びベンサミアナタバコ葉に接種した結果、約数十個の細胞死誘導性クローンの同定に成功した。以下に実際のスクリーニングの写真を示す。接種後約二週間後に赤矢印で示すように、接種部周辺での細胞死が観察され、これらのクローンには、MAPK キナーゼ、ユビキチン、ヒートショックプロテイン、カルモジュリン遺伝子など様々な因子が含まれていた。そこで今回、

これらの因子の一部に関して詳細な機能解析を行ったので、合わせて紹介したい。

