

ヤナギの環境適応性と雌雄性に関する
分子生物学的解析

生物工学研究領域 樹木分子生物学研究室 二村 典宏 福井 充枝 伊ヶ崎 知弘 篠原 健司

1. はじめに

ヤナギは挿し木が容易で初期成長が早く、萌芽により再生する能力が高いため、数年程度の短い伐期での繰り返し生産に適している。このため、スウェーデンなどでは脱原子力のための代替エネルギーの一つとして、ヤナギの植栽が実施されている。

ヤナギをバイオマス資源として有効利用するには、生産性を向上させる必要がある。遺伝子組換え技術は、有用な形質の遺伝子を導入することにより、単一の形質のみを選択的に改変することを可能にする。樹木の交雑育種は非常に時間がかかるため、遺伝子組換え技術は有効な手段として期待される。遺伝子組換えのためには、導入すべき有用な遺伝子を同定、単離する必要がある。そこで、ヤナギのバイオマス生産に影響を及ぼす環境適応性と雌雄性に焦点を合わせ、それらを制御する遺伝子情報を蓄積することを目指した。

2. 高温適応性関連遺伝子の解析

一定温度に順応させたカワヤナギ (*Salix gilgiana*) を気温が5℃高い環境に移すと、顕著に光合成速度が低下する。このことから、高温ストレスはバイオマス生産に対してマイナスに働く要因の一つであると考えられる。高温に対するカワヤナギの応答を遺伝子レベルで解析するために、代表的な熱ショックタンパク質であるDnaJホモログ (SGJ1, SGJ3) とHsp70 (SGK1) のcDNAクローンを単離し、対応する遺伝子の発現特性を解析した。

熱ストレスを与えると、DnaJホモログの一つであるSGJ3の発現は急速に誘導されたが、SGJ1の発現誘導はほとんど見られなかった (図1)。SGJ3は温度変化に対する防御反応としての役割を担っているが、SGJ1はストレス反応にかかわっていないと考えられる。このように、カワヤナギのゲノム内に存在する複数のDnaJホモログ遺伝子は、それぞれ発現様式が異なることが明らかになった。

3. 雌雄性関連遺伝子の解析

バイオマス生産を目的とする場合、生殖器官へのエネルギー投資は少ないほうが都合がよい。生殖のためのエネルギーを栄養生長に転換することができれば、バイオマス生産が高まることが期待される。また、生殖器官の発達を抑制して花粉を不稔化することにより、組換え遺伝子の拡散を防止する効果も期待できる。

そこで、カワヤナギの雄性個体の生殖器官に特異的に発現するポリカラクツロナーゼ遺伝子 (SgPG1, SgPG2, SgPG3, SgPG4)、ペクチンメチルエステラーゼ遺伝子 (SgME1)、β-1,3-グルカナーゼ遺伝子 (SgGN1) を単離した。これらの遺伝子は、雄性花序以外の器官ではほとんど発現していなかった (図2)。SgPGとSgPME1に関して、生殖器官の発達過程における遺伝子の発現レベルの変化を調べたところ、雄性花序の発達段階IIIと発達段階IVで発現量が多かった (図3)。一方、雌花では、全発達過程を通じてSgPGとSgPME1の発現は見られなかった。SgPGとSgPME1の発現部位をさらに詳しく調べた結果、これらの遺伝子は成熟花粉で特異的に発現しており、未成熟の花粉 (小胞子) では全く発現していなかった (図4)。このように、SgPGとSgPME1は成熟花粉特異的遺伝子であり、雌性個体では発現していないことが明らかになった。しかし、これらの遺伝子は雌性個体のゲノム中にも雄性個体と同様に存在していた。これら多糖類分解酵素は、花粉の発達や花粉管の伸長に機能すると考えられる。

4. おわりに

本研究は、遺伝子組換え技術を用いたヤナギの改良に利用可能な有用遺伝子を提供するものである。ストレスに応答する熱ショックタンパク質遺伝子は、遺伝子組換えによるストレス耐性付与に

利用できる。また、花粉に特異的なポリカラクツロナーゼ遺伝子とペクチンメチルエステラーゼ遺伝子は、発現を抑えることによって花粉の発達の抑制に利用できる。この組換え樹木は、花粉が不稔化するため組換え遺伝子を拡散しないと考えられる。今後、単離された遺伝子が組換え樹木の実用に利用されることを期待する。

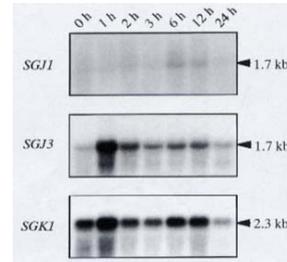


図1. 熱ストレスによるSGJ1, SGJ3及びSGK1遺伝子の発現の誘導
雄性個体からシュートを切り取り、40℃の熱ストレスを与えた。熱ストレス開始後と、1時間から24時間経過後の葉からRNAを抽出した。

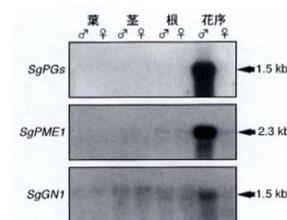


図2. カワヤナギの各器官におけるSgPG, SgPME1及びSgGN1遺伝子の発現
カワヤナギ雄性個体と雌性個体の葉・若い莖・根・花序からRNAを抽出した。雄性花序と雌性花序は発育段階IVに相当する。

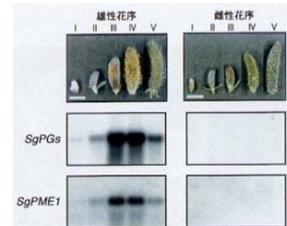


図3. 雄花と雌花の発達過程におけるSgPG及びSgPME1遺伝子の発現

雄花と雌花の発達過程を花序のサイズによって五つの発達段階に分け、それぞれからRNAを抽出した。スケールバーは1cm。発達段階IIIで、雄ずいと雌ずいの一部が、それぞれ雄性花序と雌性花序の表面に露出した。発達段階IVで完全に開花した。発達段階Vでは、花にセネッセンスが見られた。

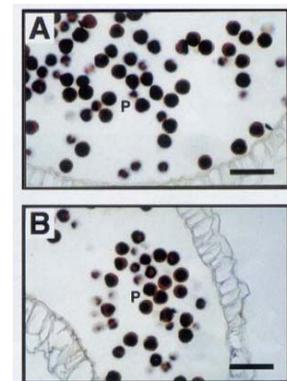


図4. 雄花の葯の発達過程におけるSgPG及びSgPME1の転写産物の発現部位
A, B: SgPG4とSgPME1に対応するアンチセンスRNAプローブを用いた時の雄花発達段階IIIの葯切片。P: 花粉。スケールバーは50μm。青色に染色された花粉で特異的発現が認められる。