2016年度前期　第4回　細胞生物学セミナー

日時：7月5日（火）17：00～　場所：総合研究棟6階クリエーションルーム

Auxin controls Arabidopsis anther dehiscence by regulating endothecium ligniﬁcation

and jasmonic acid biosynthesis

Cecchetti, V., Altamura, M. M., Brunetti, P., Petrocelli, V., Falasca, G., Ljung, K.,

Costantino, P., Cardarelli, M. (2013)

Plant J. 74: 411-422.

オーキシンは内被木化とジャスモン酸生合成を調節することによって、シロイヌナズナの葯裂開を制御する

シロイヌナズナ（*Arabidopsis thaliana* (L.), Heynh.）では、後期の雄蕊の発生は葯の裂開、花粉の成熟、花糸の伸長の３つの発生過程からなる。先行研究において、オーキシンは内被木化を制御することで、葯裂開の開始を調節することが明らかになっている。また、ジャスモン酸は葯の脱水を引き起こし、口辺細胞の切断と開口の原因となり、葯裂開を制御することが示されている。さらに、オーキシン応答因子を欠損した変異体を用いた解析により、ジャスモン酸の生合成をオーキシンが制御している可能性が示唆された。本研究では、オーキシンがどのように内被木化のタイミングを調節するかについてに加え、葯裂開の決定におけるオーキシンとジャスモン酸の相互作用を明らかにすることを目的とした。

材料として、シロイヌナズナの野生型（Col-0,Ws）及び葯裂開に変化が起きる各種変異体を用いた。最初に、野生型の様々な発生段階の葯で遊離型インドール三酢酸（Free IAA）含量を測定した。その結果、Free IAA含量の変化は先行研究で報告されているDR5の活性の推移と一致していた。次に、様々な発生段階の花芽でオーキシン受容体*AFB1*の*in situ*ハイブリダイゼーション解析をした結果、シグナルは内被木化前の花粉嚢で特異的に検出された。内被木化に関わることが示されている*MYB26*のプロモーターによって駆動するGUSレポーター遺伝子を野生型（Col-0,Ws）、*afb1-3*及び*tir1 afb2* *afb3*に導入し、解析した。*afb1-3*と*tir1 afb2 afb3*では早期の内被木化がみられ、内被と花粉嚢周辺細胞の特に花の発達ステージ8と9で*MYB26*プロモーターの活性は強められた。50µM NAAで*MYB26:GUS* Colの花序を処理し、様々な発生段階の花芽で*MYB26*プロモーターの活性を解析した結果、ステージ10と11ではMock処理よりもNAA処理の花芽で減少し、オーキシンが*MYB26*の発現に負の制御を及ぼすことが確認された。さらに、*afb1-3*と*MYB26*発現を欠く*ms35/myb36*を交配させ、それらの受精能力と内被木化のタイミングを解析した。内被木化は*afb1 myb26*では起こらず、オーキシンは*MYB26*を通して内被木化を調節することが確認された。ジャスモン酸が内被木化において役割を果たすかどうかを検証するために、様々な発生段階のジャスモン酸合成変異株*opr3*と野生型の葯を組織学的に比較した結果、ジャスモン酸が内被木化のタイミングに作用していないことがわかった。さらに、*afb1 opr3*の葯は裂開せず花の組織学的解析では、*afb1*と同様に、ステージ10の二重変異体では葯の約10%の内被で早熟な木部の肥厚を示しステージ10以前で*MYB26*の発現が強まったことから内被木化はオーキシンによって制御され、オーキシンはジャスモン酸非存在下では口辺細胞の開口に作用しないことが示された。オーキシンとジャスモン酸生合成の関連を解析するために、野生型と*afb1-3*と*tir1 afb2 afb3*の花芽で*DAD1*と*OPR3*の発現を比較した結果、オーキシンがステージ11と12で特異的にこれらのジャスモン酸生合成遺伝子の発現に負の作用を及ぼしていることが示された。*opr3*の花序をジャスモン酸処理し、48時間後に裂開葯の数を測定した結果、裂開葯の割合はジャスモン酸濃度が高いほど大きくなった。*afb1 opr3*の花序でも解析した結果ジャスモン酸処理した場合、ステージ12においては、*opr3*花序よりも裂開葯の割合が高くなり、つまり裂開が早まっていた。

以上より、葯裂開の決定においてオーキシンは*MYB26*によって内被木化のタイミングとジャスモン酸生合成を制御し、ジャスモン酸は口辺細胞の開口を調節することが明らかになった。また、高いジャスモン酸濃度と早期の内被木化は早熟な葯裂開を引き起こすことが示された。

興味を持たれた方は是非ご参加ください。　髙橋 花歩