

種子休眠に関する分子生物学的アプローチ

川上直人 (横浜市立大学木原生物学研究所)

穂発芽が起きる要因の一つは、収穫時期の種子が休眠を持たないか、休眠が打破されることである。休眠の形成は種子の形態が完成する頃に始まる。休眠を持たない種子は登熟過程で、休眠を持つ種子は完熟後の後熟により休眠を失なう。ここでは、1) シロイヌナズナやトウモロコシなどの休眠に関わる突然変異体とその変異遺伝子の解析、2) 休眠性の異なる穀類種子に発現する遺伝子の分子生物学的解析から得られた情報をまとめ、現在考える、種子休眠の分子機構についての私見を紹介する。

1. 種子休眠に関わる突然変異体

種子の休眠性が低下した突然変異体は、植物ホルモンのアブシジン酸 (ABA) に関連した変異と、ABA に関連しない変異に分けられる。したがって、種子の休眠形成には ABA が必要であるが、充分ではないと言える。

1-I. ABA に関連しない変異

ABA に関連しない変異として、シロイヌナズナの leafy cotyledon (*lec*)、*fus3*、*reduced dormancy* (*rdo*) が報告されている。このうち、*lec1*、または *fus3* 変異種子は、正常な ABA 感受性を持つにも関わらず、休眠が形成されずに未熟発芽する。ただし、これらの変異種子では貯蔵タンパク質の合成や乾燥耐性の発達等、種子成熟全般が阻害されてしまう。一方、*rdo* 変異を持つ種子は乾燥耐性を持ち、未熟発芽することはないが完熟種子の休眠性が低下する。これらの遺伝子の分子レベルの機能は、現時点では不明である。

1-II. ABA 欠損変異と ABA 合成調節

ABA に関連した変異は、ABA 欠損か、ABA 感受性の変異体である。ABA 欠損変異体は、トウモロコシ、オオムギ、トマト、シロイヌナズナ、タバコなどで報告されている。ABA 欠損変異体は、種子が休眠を持たないだけでなく、気孔の閉鎖が起こりにくくなるため植物体が萎れやすくなってしまう。これらの変異体の生化学的解析から、ABA 合成系路が明らかになりつつある。最近、タバコの *aba2* 変異体を用い、トランスポゾンタギングにより遺伝子がクローン化され、アブシジン酸の前駆体であるカロチノイド (ゼアキサンチン) を代謝する酵素をコードすることが明らかにされた。ABA 合成に関わる遺伝子の単離が進み、その発現調節機構が解明され、種子休眠性の調節が可能となることを期待する。

1-III. ABA 非感受性変異

ABA 感受性変異体のほとんどは、ABA 感受性が低下した変異体である。トウモロコシの *vp1* 変異種子では休眠や乾燥耐性の獲得が起こらず、穂発芽する。VP1 タンパク質は転写制御因子であり、休眠など種子成熟に関わる遺伝子の発現活性化および発芽に関わる遺伝子の発現抑制の両者に関わると示唆されている。シロイヌナズナの *ABI3* 遺伝子もクローン化されており、トウモロコシの *VP1* 遺伝

子と部分的に高い相同性を持ち、転写制御因子であると報告された。abi3変異では5つの対立遺伝子が知られており、その表現型の程度が異なる。abi3-1変異種子は乾燥耐性を持ち、完熟種子を形成するが休眠を持たない。abi3-3変異種子は乾燥耐性も持たず、条件により未熟発芽する。今のところ、ABI3/VP1遺伝子に起きた変異により休眠性が高まった突然変異体は単離されていない。

1-IV. ABA 高感受性変異：耐穂発芽性変異？

昨年、ABA感受性が高まった変異体としてシロイヌナズナの era 変異が報告された。この遺伝子は T-DNA タギングによりクローン化され、タンパク質イソプレニル化酵素であることが明らかにされた。細胞内の情報伝達に関わる Ras などの三量体 G タンパク質は、イソプレニル化されることによりその機能を発現する。アブシジン酸の情報は、G タンパク質を経由したリン酸化により伝えられている可能性が考えられる。おもしろいことに、era 変異種子は野生型種子よりも強い休眠を持ち、その休眠を打破するには野生型種子よりも長時間低温で吸水させる必要があると報告された。アブシジン酸高感受性を指標とすることにより、穂発芽耐性系統を選抜できると期待される。

2. 遺伝子発現解析からのアプローチ

コムギやカラスムギなど、穀類種子を材料とした分子生物学的解析から、休眠を持った種子では発現するが、休眠を失った種子では発現しなくなる遺伝子の cDNA が単離されている。現在、私たちがコムギから単離したものも含め、ほとんどの遺伝子の機能は不明であるが、オオムギとカラスムギから単離された2種の遺伝子についてのみ、その機能が報告されている。

2-I. マンニトール合成酵素

カラスムギの吸水させた休眠種子胚からクローン化された cDNA の塩基配列を解析したところ、そのひとつがマンニトール合成を行うアルドース還元酵素であった。この遺伝子の発現は、休眠を失った種子を吸水させた場合には発芽に伴って消失する。また、アブシジン酸により活性化され、ジベレリンにより発現が低下、消失する。マンニトールなどの糖類は、種子細胞内の水分環境を調節することにより、休眠性に関わっている可能性が考えられる。

2-II. 抗酸化タンパク質

Bromus secalinas およびオオムギの吸水した休眠種子で発現が高まる遺伝子の選抜により、抗酸化作用をもつタンパク質、peroxiredoxin をコードする cDNA がクローン化された。オオムギ種子の休眠は、過酸化水素などの強い酸化力を持つ物質により打破される。一般に吸水が起こると、休眠を持った種子でも呼吸活性が高まる。パーオキシダーゼなどの過酸化物質消去に関わる酵素は、発芽後に活性が認められる。したがって、呼吸により生成される過酸化物質を解毒する作用を種子が持たないとすれば、たとえ休眠を保持していても発芽してしまうと考えられる。この遺伝子の発現も、ABA による調節を受ける。