
細胞接着ミュウタントの解析と変異遺伝子の単離

(10640624)

平成10年度～平成12年度科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）研究成果報告書

平成13年3月

研究代表者 佐藤 忍
(筑波大学生物科学系助教授)

3

5

資料

はしがき

研究組織

研究代表者：佐藤 忍（筑波大学生物科学系助教授）

研究経費

平成 10 年度	7 0 0 千円
平成 11 年度	1, 5 0 0 千円
平成 12 年度	8 0 0 千円
計	3, 0 0 0 千円

研究発表

(1) 学会誌等

H. Iwai, A. Kikuchi, T. Kobayashi, H. Kamada, S. Satoh: High levels of non-methylesterified pectins and low levels of peripherally located pectins in loosely attached non-embryogenic callus of carrot. *Plant Cell Reports* 18, 561-566 (1999)

H. Iwai, T. Abe, S. Yoshida, H. Kamada, S. Satoh: Production of non-organogenic and loosely attached callus in leaf disk cultures of haploid *Nicotiana plumbaginifolia* by ¹⁴N ion beam irradiation. *Plant Biotechnology* 16, 307-309 (1999)

H. Iwai, T. Ishii, S. Satoh: Absence of arabinan in the side chains of the pectic polysaccharides strongly associated with cell walls of *Nicotiana plumbaginifolia* non-organogenic callus with loosely attached constituent cells. *Planta* (2001) In Press

(2) 口頭発表

岩井宏暁, 小林俊弘, 鎌田博, 佐藤忍：細胞接着性の弱いニンジン Non-embryogenic callus におけるメチル化ペクチンとカルス表層のペクチンの減

少。日本植物生理学会 1998 年度年会（北海道，1998 年 5 月）

岩井宏暁，阿部知子，吉田茂男，佐藤忍：半数体プランバギニフォーリアを用いた細胞間接着に関連するミュータントの作出と形態学的解析。日本植物生理学会 1998 年度年会（北海道，1998 年 5 月）

岩井宏暁，阿部知子，吉田茂男，佐藤 忍：PRODUCTION AND MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF THE MUTANTS CORRELATED WITH INTERCELLULAR ATTACHMENT IN HAPLOID *Nicotiana plumbaginifolia*. 第 16 回国際植物生長物質会議（千葉，1998 年 8 月）

岩井宏暁，石井忠，鎌田博，佐藤忍：半数体プランバギニフォーリアにおける細胞間接着に関連するミュータントの形態学的解析および細胞壁多糖の生化学的解析。日本植物生理学会 1999 年度年会（仙台，1999 年 3 月）

岩井宏暁，石井忠，鎌田博，佐藤忍：Morphological and biochemical analysis of the mutants associated with intercellular attachment in haploid *Nicotiana plumbaginifolia*. 1999 Korea Japan Joint Symposium（ソウル，1999 年 7 月）

岩井宏暁，石井忠，佐藤忍：半数体プランバギニフォーリアの細胞接着ミュータント (*no1ac*) ではペクチン側鎖のアラビナンが欠損していた。日本植物生理学会 2000 年度年会（名古屋，2000 年 3 月）

岩井宏暁，石井忠，佐藤忍：ABSENCE OF ARABINAN IN THE SIDE CHAINS OF PECTIC POLYSACCHARIDE IN THE MUTANTS (*no1ac*) ASSOCIATED WITH INTERCELLULAR ATTACHMENT IN HAPLOID *Nicotiana plumbaginifolia*. PGRSA（ハワイ・コナ市，2000 年 8 月）

（3）出版物

岩井 宏暁、佐藤 忍：高等植物における細胞接着 植物の化学調節 34(2), 202-214 (1999)

H. Iwai, T. Abe, S. Yoshida, H. Kamada, S. Satoh: Production of non-organogenic and loosely attached callus in leaf disk cultures of haploid *Nicotiana plumbaginifolia* by ¹⁴N ion beam irradiation. RIKEN Accelerator Progress Report 32 147 (1999)

研究成果

ニンジンの細胞株 non-embryogenic callus は、ソマクローナル変異の結果、細胞接着がルーズになるとともに、形態形成能力を失っている。この細胞株では、ペクチン多糖の中性糖側鎖（アラビナン）に変化が見出されたが、ニンジンでは原因遺伝子の探索が事実上不可能である。そこで本研究では、*Nicotiana* 属中で最小のゲノムを持つ *N. plumbaginifolia* の半数体植物を材料として用い、同様の性質を示すミュータントの作出と解析を行うことで、ペクチン多糖の機能解明と細胞接着関連遺伝子の単離をめざし、以下の成果を得た。

1. 半数体 *N.p.* の葉切片に重粒子線の照射（窒素, 5Gy）を行ったところ、細胞間接着性が弱く不定芽形成能力を失ったカルスが、11.8%の葉切片に出現した。次に、T-DNA をアグロバクテリウムを介して導入したところ、6.7%の葉切片に不定芽分化をせず細胞接着の弱いカルスが出現した。
2. 変異カルス株 *nolacp-H14* について組織化学的観察を行ったところ、細胞間が分離しており、ルテニウムレッドによるペクチンの染色性が非常に弱いことが観察された。また、細胞壁多糖を分画し、多糖の解析を行ったところ、*nolacp-H14* では、ヘミセルロースと挙動をともにするペクチン側鎖のアラビナンが欠失しており、本来細胞壁と結合するべきペクチンが培地に漏出していることが判明した。
3. これらの細胞株から、TAIL-PCR 法を用いて、T-DNA の挿入された遺伝子のクローニングを行ったところ、5種類の細胞壁機能・合成に関係している可能性の有るクローンが得られた。中でも、*nolacp-H18* は、動物の多糖合成酵素と相同性が見出された。現在、これらの遺伝子の機能確認を行うとともに、発現特性の調査を行っている。
4. 以下に、発表した論文の別刷りを掲載する。

謝辞

森林総合研究所・石井忠博士、理化学研究所・吉田茂男博士をはじめ、ご協力いただいた皆様に深く感謝申し上げます。