

胚形成と染色体の緩み

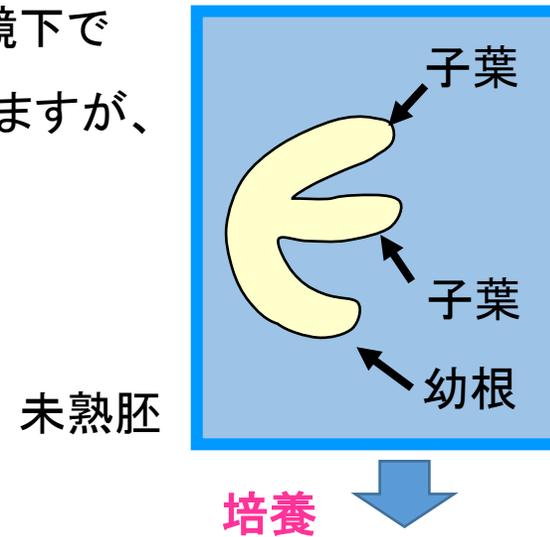
はじめに

植物組織培養では、生殖細胞以外の細胞(体細胞)を培養し、脱分化させ、種子内の胚と同じようなものをつくることができます。体細胞からの胚は、不定胚と称します。

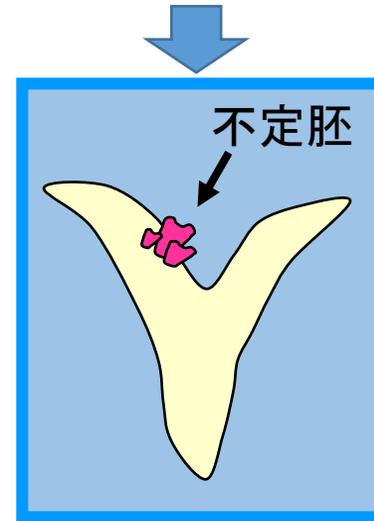
30年前は、原因成分を探するという「点」の研究でした。今は、その成分の分布や構造の変化など「立体」的な研究も行われるようになりました。

シロイヌナズナの不定胚

シロイヌナズナの不定胚は、種子内で子葉が明らかに育った時期の胚(未熟胚)を培養して誘導されます。1mmの半分ほどの大きさの未熟胚を顕微鏡下で無傷で取り出し、培地に置床しますが、丁寧な作業が要求されます。



培地には、植物ホルモンであるオーキシシンと似た薬剤である**2, 4-D (2, 4-ジニトロフェノキシ酢酸)**を加えます。未熟胚を培地に置床すると、2~3週間で子葉からのみ**不定胚**が形成されます。



蛇足ですが、別の薬剤を加えると芽(不定芽)が形成されます。シロイヌナズナはゲノム解析も進んでおり、胚や芽ができるしくみを研究するにも有用な材料といえます(Plant Cell Rep., 36:pp843-858、2017)。

シロイヌナズナの不定胚形成時には、染色体の立体構造が変化することが、阻害剤と遺伝子の研究から明らかになってきています。

染色体の立体構造

遺伝子の本体であるDNAは長い分子で、**核タンパク質(ヒストン)**に規則的に巻き付いてコンパクトにたたまれ、染色体と呼ばれるものになります。

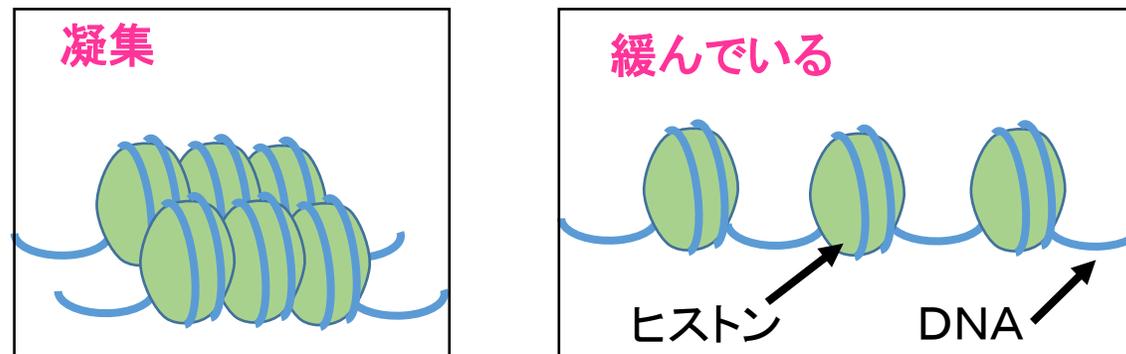
染色体には、特定の原子団が付くこと(**修飾**)が知られていました。そしてこの20年で、そのような修飾がいわば後付けで遺伝子の働きを調節し、重要な役割を担うことがわかってきました。



DNAの塩基にはメチル基という原子団が付き、**染色体は何重にも折りたたまれ、凝集された状態**になり、遺伝子発現が抑制されます。

一方ヒストンにはアセチル基などが付き、**染色体の立体構造が緩み**、遺伝子が発現するための分子が近寄りやすくなり、遺伝子発現が促進されます。

いずれの修飾も、必要に応じて特定の酵素が行います。



染色体の模式図

染色体構造を緩める試薬と不定胚

ヒストンに付いているアセチル基をはずす酵素反応を阻害しアセチル化を促す、**トリスタチンA**という**試薬(阻害剤)**があります。

恩師は、**トリスタチンA**により**シロイヌナズナ**完熟種子の胚から**不定胚のようなもの(胚様体)**が誘導されることを2008年に報告しました(Plant Physiol.、146、pp149-161)。胚様体には、不定胚形成時に働くことが知られているオーキシン生合成に関わる遺伝子が発現していました。

10年後別のグループが、シロイヌナズナの未熟胚に、完熟種子の場合の1/500の濃度のトリスタチンAを与え、不定胚が誘導されることを示しました (Frontiers in plant Sci., vol.9 1353, 2018)。未熟胚は胚に近い性質があり、より低濃度で不定胚が誘導できたのだらうと著者らは考察しています。

この場合も、不定胚ではオーキシン生合成に関わる遺伝子が発現していました。

加えて、ストレスを与えた場合などに作られる活性酸素も増えることも示されました。

染色体構造を緩める遺伝子と不定胚

一方、動物において**染色体の立体構造を緩めることが報告された****AHL遺伝子**が、植物でも注目されるようになりました。

そしてシロイヌナズナにある29個の**AHL**遺伝子のうち、**AHL15**遺伝子を過剰発現させたシロイヌナズナ遺伝子組み換え体の未熟胚で、**2, 4-Dを与えなくとも不定胚が誘導される**ことが報告されました
(Nature communications 12: 2508, 2021)。

非組み換え体の受精後すぐの卵で**AHL15**遺伝子が発現することなどから、**通常の種子の胚形成においても重要**であることが示されました。

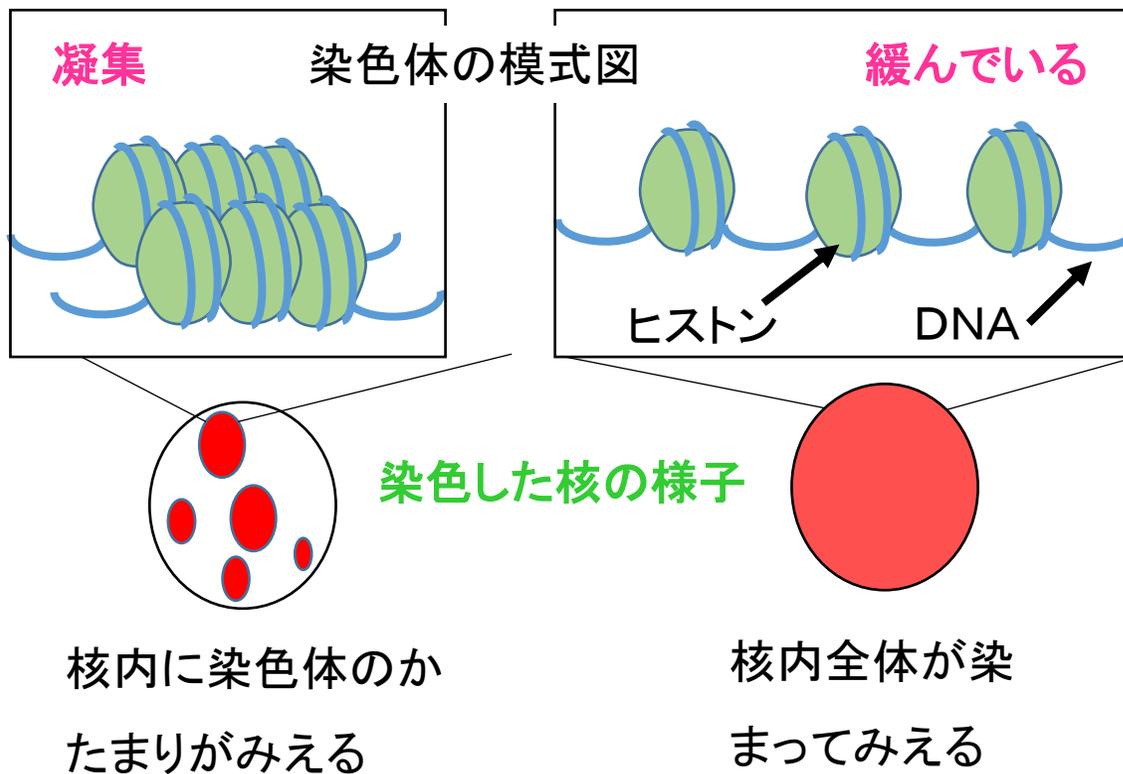
AHL遺伝子と、2, 4-D、ベビーブーム遺伝子

AHL遺伝子を失活させたシロイヌナズナ遺伝子組換え体の未熟胚に2, 4-Dを与えても、不定胚はできませんでした。

また、ベビーブーム遺伝子(2022年3月号、本連載)により作られるタンパク質が、AHL遺伝子の発現調節領域に結合し、発現を促しました。つまり**2, 4-D**や**ベビーブーム遺伝子**は、**AHL遺伝子を働かせ、不定胚を誘導**することがわかりました。

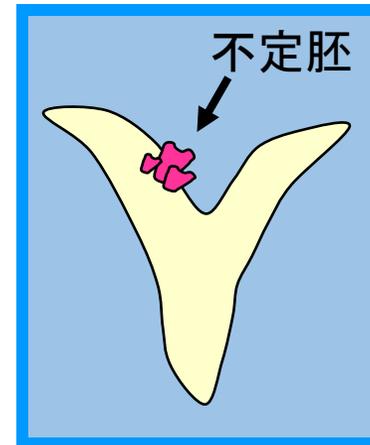
AHL遺伝子と染色体構造

顕微鏡で核のDNA染色像やヒストンの染色像を観、染色体の凝集や緩みがわかります。



AHL遺伝子を過剰発現するシロイヌナズナの未熟胚では、不定胚が誘導される部分の細胞の染色体が緩んだ状態になっていました。

2, 4-Dによる不定胚誘導時にも、それほどではありませんが染色体が緩むことがわかりました。



今後

染色体構造の緩みにより、あらゆる細胞に分化する胚がつくられることがわかりました。未熟胚ではなく、葉や茎などに分化した細胞が脱分化するには、もう1ステップ必要かもしれません。

また、染色体のここだけ緩めば脱分化するというようなことがあるでしょうか。今後の研究が期待されます。