＊背景・目的

私の研究テーマは「シロイヌナズナにおける環境ストレス耐性遺伝子の機能解析」です。植物は乾燥や低温など、環境ストレスへの耐性を保持しています。その環境ストレス耐性に関わる植物ホルモンとしてアブシシン酸（ABA）があります。基部陸上植物であるコケ植物にはそのＡＢＡに非感受の表現型を示す変異体があり、この変異体はABAによる乾燥耐性や、耐凍性を獲得しません。機能相補実験から、ARKという遺伝子が原因遺伝子である事が分かりました。この遺伝子は、被子植物であるシロイロナズナでは、相同遺伝子が６つ存在する事が分かりましたが、これらの遺伝子のABA応答機能は報告がありません。そこで、シロイヌナズナにおける相同遺伝子欠損株や過剰発現株を作出し、生理試験、遺伝子発現などを解析する事でこれらの遺伝子とABAの関連を調査しています。

＊実験の意義

ＡＢＡ非感受変異体において重要な遺伝子の一つがコケではARKという事がわかり、シロイロナズナにおいてもABA応答における重要な遺伝子または遺伝子群が進化的に保存されている事が解明され、将来的に乾燥や低温などのストレス抵抗性の植物を作出する際の情報基盤となる事が期待されます。

＊実験方法

・T-DNAを導入し標的遺伝子を欠損させた株を6遺伝子それぞれ用意する

・この時点ではT-DNAをヘテロに持つので同じ遺伝子のヘテロ同士を自家受粉させT-DNAをホモに持つシングルノックアウト(SKO)株をそれぞれの遺伝子で作製する

・先行実験により6遺伝子それぞれをシロイロナズナからクローニングしABA非感受性変異体に導入したところABA応答を回復させたAT1G73660に着目した。そしてその遺伝子と相同性がとても高いAT1G18160という遺伝子を欠損させたダブルノックアウト(DKO)株を作製する

・作製したAT1G73660のノックアウト株とAT1G18160のノックアウト株を掛け合わせ、両方の遺伝子のT-DNAをヘテロに持つ株を作製する

・ヘテロダブルノックアウト株を自家受粉させホモダブルノックアウト株を作製する

・ホモダブルノックアウト株を発芽試験にかけABA応答をみる

・遺伝子発現解析、タンパク質相互作用、インビトロでのリン酸化タンパク質キナーゼア

っセイを行う