

**DMS 法によるアイスプラント CAM 関連遺伝子の発現制御領域の同定**近藤侑梨<sup>1\*</sup>M1・佐藤稜真<sup>1D1</sup>・竹内敬香<sup>2B4</sup>・John C. Cushman<sup>3</sup>・齋藤和幸<sup>4</sup>・東江栄<sup>4</sup><sup>1</sup>九州大学大学院生物資源環境科学府・<sup>2</sup>九州大学農学部・<sup>3</sup>ネバダ大学リノ校・<sup>4</sup>九州大学大学院農学研究科)**Identification of transcriptional regulatory regions of CAM related genes in the ice plant using *in vivo* dimethyl sulfate footprinting**Yuri Kondo<sup>1</sup>, Ryoma Sato<sup>1</sup>, Kyoka Takeuchi<sup>2</sup>, John C. Cushman<sup>3</sup>, Kazuyuki Saitou<sup>4</sup>, Sakae  
Agarie<sup>4</sup><sup>1</sup> Graduate school of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University,  
<sup>2</sup>School of Agriculture, Kyushu University, <sup>3</sup>Department of Biochemistry and Molecular Biology,  
University of Nevada, Reno, <sup>4</sup>Faculty of Agriculture, Kyushu university)

**【背景及び目的】** アイスプラント (*Mesembryanthemum crystallinum* L.) は南アフリカ原産の一年生草本で、塩、高温、強光ストレスにより、光合成型を C3 から CAM に変換する。CAM においては CO<sub>2</sub> はまずホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ (PEPC) で固定される。PEPC は PEPC キナーゼ (PPCK) でリン酸化され、夜間に活性化する。PPCK をコードする *ppck1* の発現量は、CAM 化に伴い増加し、概日リズムを持つようになる。しかし、その制御機構は解明されていない。本研究では、DMS を用いた *in vivo* フットプリント法及び RNA-seq を用い *ppck1* の発現を制御するシスエレメント配列及び転写因子を同定した。

**【材料及び方法】** アイスプラントの葉身を用いた。100 mM NaCl を 1 週間、300 mM NaCl を 2 週間処理した個体の葉身を朝 7 時半と昼 15 時に採取した。採取した葉身に DMS 処理を施し、DNA を抽出した。抽出後の処理は (Umeyama et al., 2017) に従った。RNA は AGPC 法で抽出し、次世代シーケンサーに供試した。トランスクリプトーム解析は佐藤ら (2022) の方法に準じた。

**【結果及び考察】** CAM 化した葉では、*ppck1* が強く発現する朝に開始コドン上流 1119~1410 及び 69~276 bp の領域に PCR 産物の増幅が認められた。どちらの領域も既報 (出, 2010 年) で示されたエンハンサー領域であったことから、この領域が転写因子結合領域であることが示唆された。植物転写因子データベース plantPAN (<http://plantpan.itps.ncku.edu.tw/>) を用い、結合する転写因子を推定したところ、ABA 及びエチレン誘導性の転写因子が推定された。また、NaCl 無処理の CAM が誘導されていない葉では、同時刻に開始コドン上流 69~276bp における PCR 産物の増幅がなかったことから、この領域に *ppck1* の発現を律速する転写因子結合部位が存在すると考えられた。plantPAN で推定された 85 個の転写因子のホモログの発現量を RNA-seq で調べた。その結果、*ppck1* と同じ遺伝子発現パターンを示す転写産物の遺伝子は 4 つ存在し、いずれも *spl* であった。*spl* がコードする SPL 転写因子は DELLA タンパクと相互作用する。また、DELLA タンパクは ABA 及びエチレン誘導性転写因子と相互作用することが報告されている (Lim et al., 2013)。以上より、*ppck1* の発現は、SPL と ABA、又はエチレン誘導性転写因子が DELLA を介して結合した複合体によって制御されている可能性が示唆された。