

# シロイヌナズナの突然変異体とゲノム構造

誌名	The Japanese journal of genetics
ISSN	0021504X
著者名	小牧,正子 岡田,清孝 志村,令郎
発行元	Genetics Society of Japan
巻/号	64巻1号
掲載ページ	p. 57-74
発行年月	1989年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター  
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council  
Secretariat



総 説  
REVIEW

シロイヌナズナの突然変異体とゲノム構造

—シロイヌナズナを用いた高等植物の分子遺伝学の展開—<sup>1)</sup>

小牧 正子<sup>2)</sup>・岡田 清孝<sup>2)</sup>・志村 令郎<sup>2)3)</sup>

<sup>2)</sup>基礎生物学研究所・細胞情報研究部門

<sup>3)</sup>京都大学理学部生物物理学教室

(昭和63年12月16日受理)

はじめに

高等植物の示す種々の性質が遺伝子によって制御されている様相を調べ、さらに分子レベルにおける機構を解明する上で、遺伝学的な解析がきわめて有効なアプローチであることは改めて述べるまでもない。これまでに、コムギ、イネ、トウモロコシなどの穀類や、ジャガイモ、マメ類、トマト、トウガラシ、キャベツなどの野菜、さらにアサガオやランなどの鑑賞用の植物などについて多くの突然変異系統が分離され遺伝的な解析がおこなわれている(木原, 1975; 常脇, 1982; O'Brien, 1987)。また、細胞の融合や外来遺伝子の導入、植物体の再生などの技術について、タバコの系を中心に研究が進められてきた。しかし、これらの植物種は、栽培の容易さや突然変異体の選別および遺伝解析の容易さなどの観点からみると、必ずしも最適な研究材料ではない。

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.) は、アブラナ科に属する越年生草本で、日本を含む旧大陸一帯に分布する野草である(図1)。この植物は、20年以上前から生理学や遺伝学の実験材料として用いられてきたが、最近、分子遺伝学の材料として脚光を浴びるようになった。シロイヌナズナは、以下のような特徴を持っている。

- (1) 植物体が小さく(草丈は20-30 cm)、実験室内で容易に栽培できる。
- (2) 世代時間が短い。連続照明恒温(22°C)の条件下では、播種してから約6週間で次代の種子を得ることができる。
- (3) 自家受精によって多数(数百から数千個)の種子をつける。  
実験室内などで媒介昆虫がいない条件下での放任他殖率は $10^{-4}$ 以下である。
- (4) 人工受粉が可能である。

1) Mutants and genome structure of *Arabidopsis thaliana*: Recent developments in molecular genetics of a higher plant *A. thaliana*.

2) Masako K. Komaki, Kiyotaka Okada, and Yoshiro Shimura: Division of Cellular Communication, National Institute for Basic Biology, Okazaki 444, Japan.

3) Department of Biophysics, Faculty of Science, Kyoto University, Kyoto 606, Japan.

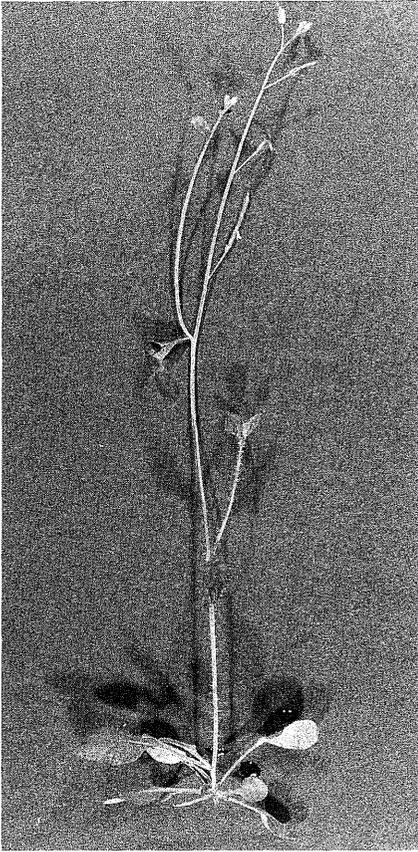


図1. シロイヌナズナ野生型 (Columbia)。播種後約4週間で花をつける。草丈は約30 cm。

- (5) 染色体数が少なく ( $2n=10$ )、染色体地図が作成されている。
- (6) ゲノムサイズが小さい。核の半数体ゲノムは  $7 \times 10^7$  塩基対である。
- (7) 反復配列が少ない (核ゲノムの約25%)。
- (8) 遺伝子の構造がコンパクトである。

したがって、実験室内で容易に多数の植物体を栽培することができ、突然変異体の分離および遺伝解析が可能である。また、ゲノムサイズがきわめて小さく、反復配列が少ないので、遺伝子の単離同定が比較的容易におこなえる。このように分子遺伝学的解析に有利な特徴があるので、シロイヌナズナは“植物のショウジョウバエ”と呼ばれている (Rédei, 1974; 1975; 藤井, 1982)。さらに、遺伝子導入や植物体再生の系の開発もさかんにおこなわれており、標準研究材料として用いられる条件がととのってきた (Meyerowitz and Pruitt, 1985; Estelle and Somerville, 1986; Meyerowitz, 1987; Pang and Meyerowitz, 1987; Fink, 1988; 岡田と志村, 1988)。1964年以來、シロイヌナズナの研究誌 *Arabidopsis Information Service* (AIS) が A. R. Kranz (Botanisches Institute, J. W. Goethe-Universität, D-6000 Frankfurt am Main, FRG) によって刊行されており、種々の基礎的な知見を得ることができる。ま

た、数年おきにシロイヌナズナの国際ミーティングが開催されており、1987年にミシガン州立大学で開かれた第3回ミーティングには、アメリカやヨーロッパを中心に約200人の研究者が集まって、突然変異体や遺伝子の分離、遺伝子導入技術の開発などについて情報交換がおこなわれた。

高等植物の基本的な生物学現象の遺伝機構を分子レベルで解明する上で、シロイヌナズナはきわめて有用な実験材料であるといえる。本稿では、シロイヌナズナを用いた研究の現状を紹介する。

### 1. シロイヌナズナのゲノムの特徴

シロイヌナズナのゲノムサイズは、半数体あたり  $7 \times 10^7$  塩基対と計算されている (Leutwiler et al., 1984) が、この値は大腸菌の約25倍、酵母の5倍、ショウジョウバエの半分に相当し、線虫 (*C. elegans*) や細胞性粘菌 (*D. discoideum*) とほぼ等しい。多くの高等植物のゲノムサイズはきわめて大きく、ワタ ( $7.8 \times 10^8$ )、タバコ ( $1.6 \times 10^9$ )、エンドウ ( $4.5 \times 10^9$ )、コムギ ( $5.9 \times 10^9$ ) のようにシロイヌナズナの数十倍から百倍に達する (Meyerowitz and Pruitt, 1985)。しかし、シロイヌナズナのみが飛び離れて小さなゲノムサイズを持つのではなく、モウセンゴケ科の *Drosera capensis* など8科9属の植物がシロイヌナズナとほぼ匹敵するゲノムサイズを持っていることが知られている (Bennet and Smith,

表1. クローニングされたシロイヌナズナの遺伝子

遺 伝 子	文 献
アルコール脱水素酵素	Chang and Meyerowitz, 1986
クロロフィル a/b 結合タンパク質	Leutwiler et al., 1986
H3 および H4 ヒストン	Chaboute et al., 1987
$\alpha$ -チューブリン	Ludwig et al., 1987, 1988
$\beta$ -チューブリン	Marks et al., 1987
EPSP 合成酵素	Klee et al., 1987 b
硝酸還元酵素	Crawford et al., 1988
アクチン	Nairn et al., 1988
カルコン合成酵素	Feinbaum and Ausubel, 1988
プラストシアニン	Vorst et al., 1988
アセト乳酸合成酵素 (野生型)	Mazur et al., 1988
アセト乳酸合成酵素 (クロロサルフロン耐性型)	Haughn et al., 1988
クエン酸合成酵素	Unger et al., 1988
ユビキチン	Burke et al., 1988
熱ショックタンパク質 (HSP70)	Wu et al., 1988
12 S 貯蔵タンパク質	Casey and Domoney, 1987
U 2 snRNA 遺伝子	Vankan and Filipowicz, 1988
U 5 snRNA 遺伝子	Vankan et al., 1988
組織特異的遺伝子	Simoens et al., 1988 a

硝酸還元酵素とクエン酸合成酵素の遺伝子は cDNA クローン、他はすべてジェノミッククローンである。

1976)。シロイヌナズナと同属の植物はいくつかあるが、ゲノムサイズは知られていない (Laibach, 1958; Berger, 1968; Abdullaev et al., 1977; Manton, 1932; Rédei, 1975; Kranz and Kirchheim, 1987)。

シロイヌナズナのゲノムサイズが小さい理由の一つは、反復配列の占める割合が小さい (25%) ことである (Pruitt and Meyerowitz, 1986)。反復配列は平均すると120キロ塩基対に1個の割合となる。反復配列のうち約30%はリボソーム RNA 遺伝子であるが、それ以外の反復配列もクローニングされて基本的な共通配列が決定されている (Martinez-Zapater et al., 1986; Simoens et al., 1988 b)。シロイヌナズナの反復配列が少ない理由は不明だが、反復配列の複製増加を抑え、除去する機構が働いているかも知れない。Ausubel らは反復配列が少ないことを利用してテロメア (染色体の末端配列) をクローニングした (Richards and Ausubel, 1988)。基本配列は 5'-CCCTAAA-3' であるが、これはヒトのテロメアの基本配列 5'-CCCTAA-3' (Roberts, 1988; Moyzis et al., 1988) ときわめてよく似ている。

これまでに分離され塩基配列が決定されたシロイヌナズナの遺伝子を表1に示す。葉、莖、若いさやなどの器官に特異的に発現する遺伝子がクローニングされている (Simoens et al., 1988 a) が、各遺伝子の機能はあきらかでない。表1に示したその他の遺伝子は、他の植物や動物の該当する遺伝子の一部をプローブとするハイブリダイゼーション、または他の動植物から精製されたタンパク質に対する抗体を用いてクローニングされたものである。

これらのシロイヌナズナの遺伝子の構造を他の高等植物の遺伝子と比較すると、イントロンのサイズが小さくなったものや、イントロンの数が減ったものが見いだされる。シロイヌナズナとベチュニアの EPSP (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate) 合成酵素の遺伝子は同じ位置に7個のイントロンを持っているが、シロイヌナズナ遺伝子のイントロンはいずれも短い (Klee et al., 1987b)。また、トウモロコシのアルコール脱水素酵素には9個のイントロンがあるが、シロイヌナズナの遺伝子ではそのうちの3個がなくなっており、残存するイントロンはいずれも短くなっている (Chang and Meyerowitz, 1986)。さらに、ウキクサのクロロフィル a/b 結合タンパク質の遺伝子に存在する1個のイントロンがシロイヌナズナには見いだされない (Karlin-Neumann, 1985; Leutwiler et al., 1986)。このようにシロイヌナズナの遺伝子がコンパクトな構造をとっていることは、小さなゲノムサイズでありながら高等植物として必要な遺伝子を1セット保持している第二の理由だと考えられる。

## 2. 突然変異体の分離

既に述べたように、シロイヌナズナは、多数の植物体を研究室内で容易に育てることができ、世代時間が短く、遺伝的掛け合わせが可能であるから、種々の突然変異体を分離して詳細な遺伝解析をおこなうことができる。これまでの分子遺伝学の歴史が示すように、複雑な生物現象の分子機構を解明する上で、突然変異体を分離することはきわめて重要である。特に、植物個体として発現される現象、例えば、胚発生、器官分化、器官の形態形成などの発生生物学の問題や、外環境 (光、重力など) や植物ホルモンに対する応答反応や花成などの植物生理学の問題は、突然変異体を解析することによって遺伝的制御の様相を明快に理解することができるものと期待される。また、高等植物は多種類の二次代謝産物を合成するが、突然変異体を解析することによって、これらの物質の生合成過程とその制御機構をあきらか

にすることができる。

シロイヌナズナの突然変異体は、通常、突然変異誘発剤で処理した種子の中から選別する (Rédei, 1974; Estell and Somerville, 1986; Meyerowitz, 1987)。効率のよい突然変異誘発剤としてよく用いられているのは、メタンスルホン酸エチル (EMS) である。種子を0.3%のEMS水溶液に一晩浸し、水でよく洗浄して土にまく。発芽した植物 (M1世代) は、突然変異遺伝子を持っているとしてもヘテロ接合体で、かつキメラとなっていると考えられる。多数のM1世代植物を育て、自家受精した種子 (M2種子) を得る。M2種子の中には、突然変異遺伝子についてホモ接合体になったものが含まれているから、劣性突然変異遺伝子についても突然変異体を見いだすことができる。我々の経験では、EMS処理によって発芽率が約70%に低下したM1種子 (約2,000粒) から得たM2世代の植物体約2,000から5,000個体の中に、目的とする突然変異体を見いだすことができる。

これまでに種々の突然変異体が分離され、約100個の突然変異遺伝子について染色体上の位置が決定されている (表2) (Koornneef et al., 1983, 1987)。これらの突然変異遺伝子のうち表現型の区別が容易なものは、各染色体のマーカー遺伝子として未知の遺伝子座の位置を決定するのに利用されている。これらの突然変異体の多くは、Arabidopsis Information Serviceで系統維持されており、ここから入手することができる。なお、シロイヌナズナの遺伝子座の命名法について、第3回シロイヌナズナ国際ミーティング (1987年4月, ミシガン大学) で合意された内容 (Bleecker et al., 1988 参照) は以下のとおりである。

表2. 染色体地図上にマップされたシロイヌナズナの突然変異 (96座位) (Koornneef et al., 1983, 1987による)

表現型	遺伝子記号	座位の数
葉, 茎の形態	<i>an, as cp 1-3, cw 1, er, hy 1-5, le, min, pa, se</i>	16
花の形態	<i>ag, ap 1-2, bp, clv 1-2, pi</i>	7
星状毛の形態と有無	<i>dis 1-2, gl 1-3</i>	5
蠟質の有無	<i>cer 1-9</i>	9
葉, 茎の色	<i>alb 1-2, ch 1, ch 5-6, ch 42, chm, im, lu, re, sul, vr 2, xv, yi</i>	14
種皮の色	<i>tt 1-7, ttg</i>	8
植物ホルモン耐性または要求性	<i>aba, abi 1, abi 3, aux, dwf, etr, ga 1-5, gai</i>	12
遅咲き	<i>co, fb, fca, fd, fe, fg, ft, gi</i>	8
栄養要求性	<i>py, th 1-3, tz</i>	5
代謝異常	<i>chl 1-3, cnx, csr, mtr, rgn, su</i>	8
稔性	<i>gf, gm, msl, p</i>	4

- (1) 遺伝子記号はアルファベット3文字で示す。
- (2) 遺伝子型はイタリック体 (または下線をつける) で示す。
- (3) 野生型の遺伝子型は大文字, 突然変異型は小文字で示す。  
(例 *ETR* と *etr*)
- (4) 同様の表現型で座位の異なる突然変異は遺伝子記号に数字をつけて区別する。  
(例 *etr 1*)
- (5) 同一の座位に位置する対立遺伝子はハイフンの後につけた数字で区別する。  
(例 *etr 1-1*)
- (6) 表現型はローマン体で示す。最初の文字を大文字, 後の2文字は小文字で書く。
- (7) 優性および劣性については表示しない。  
(ただし, 1987年春以前に命名報告されたものについては, まだ統一されていない。)

いままでに報告されたシロイヌナズナの突然変異体のうち, 重要なものを次に紹介する。

#### i) 器官発生および形態形成過程に異常を持つ突然変異体

葉や茎の形態に異常を示す突然変異については, 16個の遺伝子座が染色体上にマップされている (表2)。この中には, 植物体が小さくなるもの (*cp*, *dw*, *er*, *le*, *min*) や, 葉が細長いもの (*an*), 葉の切込みの大きいもの (*se*) などがある。

現在もっとも活発に研究されているのは, 花の形態に異常を持つ突然変異体である。シロイヌナズナの花 (図2A) は, 4種類の器官 (4枚のがく片, 4枚の花弁, 6本の雄しべ, 1本の雌しべ) によって構成されているが, これらの器官に, 数の増減, 欠失, 位置のずれ, 形の変化, 転換などの突然変異を生じた変異体が多数分離されている (Haughn and Somerville, 1988; Komaki et al., 1988; Bowman et al., 1989)。花の器官の数の増減や欠失, 位置のずれを生じる突然変異遺伝子は, 花の器官発生過程の初期, すなわち器官原基の数や位置を決定する段階に作用するものと考えられる。例えば, *ap 1* は花弁が欠失し, *clv 1* は雌しべを構成する心皮の数が倍加して大きな雌しべが生じる。一方, 花の器官の形が変化する突然変異遺伝子は, 器官発生過程の後期, すなわち器官原基が成長して成熟形態をとる段階に働くと思われる。がく片や花弁が細長くなったり, 短くなった突然変異体が多数得られている (小牧・他, 未発表)。

転換突然変異体 (ホメオティック突然変異体) は, いずれかの花の器官が本来の形態をとらず, 他の器官と相同な形態を持つもので, 器官発生の分化の方向を決定する機構に異常を生じたものと考えられる。例えば, *ap 2* 突然変異体では, 花弁に花粉嚢ができ, がく片が葉状の構造体となる (図3A) (Koornneef et al., 1980 a; Pruitt et al., 1987; Haughn and Somerville, 1988; Komaki et al., 1988)。*pi* 突然変異体では, 花弁ががく片と同じ形態をとるほか, 雌しべが太くなる (Pruitt et al., 1987; Haughn and Somerville, 1988; 岡田・他, 投稿中)。また, FI-40 突然変異体では, がく片が雌しべの構成要素である心皮に転換し, 花弁と大部分の雄しべが欠失する (図3B) (Komaki et al., 1988)。FI-54 突然変異体の花では, がく片, 花弁, 雄しべの間の相互変換がみられる (図3C) (Komaki et al., 1988)。この他にもいくつかのホメオティック突然変異体が知られているが, いずれも一個の劣性突然変異を

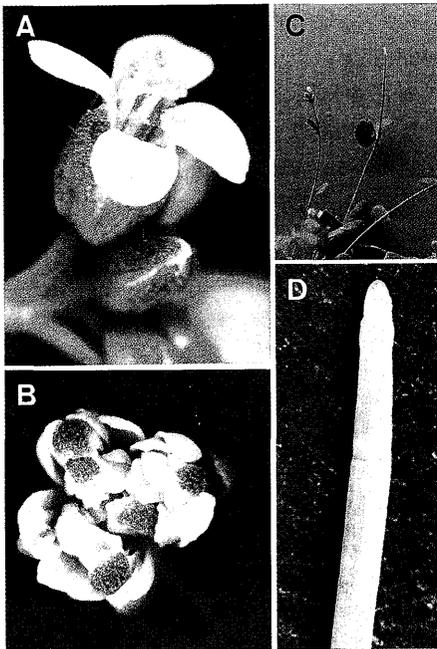


図2.

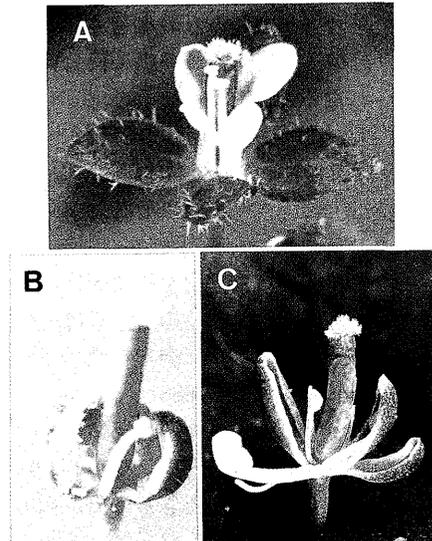


図3.

図2. シロイヌナズナの花。A：野生型の花。B：八重咲き突然変異体 (*agamous*) の花。C：野生型の花茎 (左) と花芽が生じない突然変異体 (*pin-formed*) の花茎 (右)。D：*pin-formed* 突然変異体の花茎の先端部。

図3. シロイヌナズナの家オティック突然変異体の花。A：花弁が雄しべに、がく片が葉に転換した突然変異体 (*ap2*) の花。花弁に花粉嚢ができています。B：がく片が雌しべに転換した突然変異体 (F1-40) の花。がく片は雌しべを構成する心皮に転換しており、内側に胚珠が、先端に柱頭毛を持つ。花弁と大部分の雄しべは欠失している。C：F1-54 突然変異体の花。花弁や雄しべの数や位置が異常になる。花粉嚢を持った花弁や、葯 (やく) を持たない雄しべがみられる。

生じたものである。興味深いことに、上記の *ap2* と F1-40 は同じ遺伝子座に生じた突然変異であることがあきらかになった (Komaki et al., 1988)。このように一個の突然変異によって、花の器官が互いに転換することは、花の器官がいずれも葉と相同の器官であるという植物器官学の仮説 (Esau, 1977; 原, 1984) を強く支持していると考えられる。

この他に、花茎の先端に花芽がまったく生じないもの (*pin*) (図2 C, D) や、がく片と花弁が繰り返す八重咲突然変異体 (*ag*) (図2 B) などがある。

花の形態異常突然変異体の表現形質を互いに比較検討することによって、花の器官発生過程を基本的な段階に分け、各段階を制御する遺伝子群を同定することができる。例えば、シロイヌナズナの雌しべは2枚の心皮が向かい合って融合した構造をとっているが、突然変異体の解析から、雌しべの発生過程を5段階 (心皮原基の数と位置の決定、心皮原基の形成、原基の成長、隔壁の融合、柱頭の形成) にわけ、それぞれの段階に働く遺伝子が同定された (岡田・他、投稿中)。

## ii) 胚発生過程の突然変異体

シロイヌナズナは受精すると雌しべが伸長し、30-50個の種子が二列に並んだ細長いさやを形成する。Meinkeらは、多数のさやを調べ、さやの中に胚発生過程の途中で発生が停止した種子が含まれているものを選別した。これまでに、30種以上の劣性突然変異体が分離されており、突然変異遺伝子のホモ接合体は胚発生過程の種々の段階で成長が停止していることが示された (Meinke and Sussex, 1979 a, 1979 b; Meinke, 1987)。このうちいくつかの突然変異体では、種子中に含まれる貯蔵タンパク質 (cruciferin) が欠損している (Heath et al., 1986)。また、別の突然変異体は、培地中にビオチンを加えることによって胚発生異常が回復する (Shellhamer et al., 1987; Schneider et al., 1989)。

## iii) 表皮の形態と色素異常突然変異体

シロイヌナズナの葉や茎の表面には、星状毛とよばれる表皮細胞の突起があるが、この突起のない突然変異体や、突起の形状が変化した突然変異体が分離されている (表 2) (Haughn and Somerville, 1988)。また、外表面に蠟質が分泌されないために茎の色調が変化したもの (*cer*) や、葉の色が黄緑になったり (*ch*, *lu* など)、白色と緑色の部分が斑になっているもの (*chm*, *im*)、種子の皮の色が薄いもの (*tt1-6*, *tig*) などが知られている。これらの突然変異は、容易に識別できるので遺伝的掛け合わせのマーカー突然変異として用いられている。

## iv) 光や重力に対する応答異常突然変異体

高等植物は光や重力などの外環境の刺激に反応して成長のパターンを変化させる。これらの反応には、刺激の感知、情報の伝達、情報の受容などの過程が含まれるが、分子機構はまだ十分に解明されていない (Juniper, 1976)。しかし、最近になって、これらの過程に異常を生じたシロイヌナズナの突然変異体が多数分離されたので、各過程について詳細な解析が進むと思われる。

芽生えが光の方向に屈曲する反応 (光屈性) に異常を持つ突然変異体が多数分離されているが、その中には、光遮断条件下で茎が上方に伸びない (茎の重力屈性異常) ものがある (Poff et al., 1987)。また、芽生えの胚軸が長くなる突然変異体 (*hy*) の中に、光の受容体として主要な役割を持つと考えられるフィトクロムをほとんど持たないものが見いだされている (Koorneef et al., 1980 b)。

一方、根の重力屈性 (根が重力の方向に曲がる反応) に異常がある突然変異も得られている。これまでに高濃度のオーキシンに耐性を示す突然変異体 *aux*, *dwf* (Maher and Martindale, 1980; Mirza and Maher, 1987), *axr-1* (Estelle and Somerville, 1987) の根が異常な重力屈性反応を示すことが知られていたが、その後、我々の研究室や他の研究室で根の屈性異常突然変異体の分離が試みられた。垂直に立てた寒天培地上に種子をまいて発芽させると、根は寒天表面をまっすぐ下に伸びてゆくが、途中でシャーレごと横向きにすると根は数時間の間に新しい重力方向に向かって曲がる。この反応はきわめてよく揃った行動であるから、多数の M2 種子 (前項参照) をまいて異常な反応を示す突然変異体を容易に識別することができる。これまでに、重力方向の変化に反応しないものや、反応が遅れるものなどが多数分離さ

れている (C. Bell et al., 投稿中; 岡田・他, 投稿中)。これらの突然変異体の中にはオーキシン耐性を示さないものも多い。変異体は、いずれも1個の劣性突然変異を持っており、2, 3の相補群に分けられている。

根の先端部分(根端)にあるコルメラ細胞は、デンプンを貯蔵した多数のアミロプラストを含んでいる。アミロプラストは比重が大きいので、通常は細胞の下部に沈んでいるが、根の向きが変更されると、重力方向に従って細胞質内を移動する。このようにアミロプラストが平衡石(スタトリス)として作用することが、根の重力屈性反応の最初の過程であると考えられてきた(Moore and Evans, 1986; Evans et al., 1986)。しかし、最近デンプン合成のできない突然変異体が分離され、この変異体は根端細胞内にデンプン粒をほとんど持たないにもかかわらず正常な屈性反応を示す(Caspar et al., 1985 b)。けれども、まだ少数のアミロプラストが存在してこれが機能している可能性が残っているので、この説の当否については注意深く検討する必要がある(Shen-Miller and Hinchman, 1974)。

#### v) 植物ホルモンの生合成および反応異常突然変異体

植物ホルモンに対する感受性を欠いた突然変異体や、植物ホルモン要求性突然変異体が分離されている。前者はホルモン受容過程に、後者はホルモンの生合成過程に異常を持つと考えられる。

シロイヌナズナの芽生えにエチレンを与えると胚軸の成長が抑えられるが、エチレン存在下で胚軸が伸長する突然変異体が分離された。この突然変異体(*etr*)は発芽の促進、パーオキシダーゼの誘導、葉の老化の促進などのエチレンによる効果をすべて示さないので、エチレンの受容体を欠損していると考えられている(Bleecker et al., 1988)。

草丈の小さな変異体の中から、ジベレリン要求株(*ga 1-5*) (Koornneef and van der Veen, 1980)とジベレリン不感受性株(*gai*) (Koornneef et al., 1985)が分離された。*gai* 突然変異体の内生ジベレリン量は野生型と同じであった。

アブシジン酸に感受性を持たない突然変異体(*abi 1, abi 3*)は、種子の休眠期間が短く、蒸散量が増加して葉が萎縮するなどのアブシジン酸欠乏の特徴を示すが、内生アブシジン酸の量は野生型植物とほぼ同じかむしろ多い(Koornneef et al., 1982, 1984)。

また、オーキシンについては、前項で述べたように多量のオーキシンの耐性を持つ突然変異体がいくつか得られている。

このほか、花芽の形成が遅れる遅咲き突然変異体が数種類得られている(表2)。栄養成長から生殖成長へ切り替わる際に作用する植物ホルモンとして、花成ホルモンが想定されているが、遅咲き変異体が花成ホルモンと関連があるか否か興味のあるところである。

#### vi) 二次代謝産物の合成異常突然変異体

代謝経路に異常を持つ突然変異体も数多く分離されている。大部分の突然変異体は、中間代謝産物の要求性や代謝経路の阻害剤に対する耐性を指標として選別されたものであるが、中には、代謝産物の量を直接検定することによって分離された突然変異体もある。後者の選別方法は、微量検定技術が向上し、効率よく突然変異を誘発する系が開発されたために可能となったものである。シロイヌナズナは多数の個体を容易に栽培できるので、この方法をとる

ことができる。Somerville らは、脂質合成系異常の突然変異体を得るために、約2,000株のM2個体の葉を1枚ずつ取ってガスクロマトグラフィーで脂質の組成を解析し、8株の変異体を分離して5個の相補群に分類した (Browse et al., 1985, Kunst et al., 1988)。同様に1枚の葉をヨウ素で染色することによってデンプン合成ができない突然変異体が分離された (Caspar et al., 1985 a; Lin et al., 1988)。

一方、栄養要求性突然変異体も種々得られている。*py*, *th*, *tz* 突然変異体は、それぞれピリミジン、チアミン、チアゾールを培地中に加えることによって正常な成育状態に回復する (Feenstra, 1965, Li and Rédei, 1969; Rédei, 1975)。最近、*th-1* 突然変異体はリン酸チアミン合成酵素を欠失していることがあきらかにされた (Komeda et al., 1988)。

阻害剤による選別も盛んにおこなわれており、5-メチルアントラニル酸耐性株としてトリプトファン合成系の酵素欠損株 (*trp 1-1*) (Last and Fink, 1988) が得られ、アリルアルコールに対する耐性によってアルコール脱水素酵素の欠損株 (Haughn and Somerville, 1986; Meyerowitz, 1987) が分離された。また、クロロサルフロン (スルホニル尿素誘導体で除草剤として用いられる) に耐性を持つ突然変異体 (*als*) (Haughn and Somerville, 1986) は、アセト乳酸合成酵素遺伝子に1塩基の置換変異を生じている (表1)。

この他、光呼吸経路や光合成過程に異常を生じたために高濃度の二酸化炭素 (1~2%) 存在下でのみ生育できる突然変異体も多数分離されている (Somerville and Ogren, 1982; Artus and Somerville, 1988)。これらの突然変異体の中には、ホスホグリコレイトホスファターゼ欠損株 (Somerville and Ogren, 1979)、グルタミン合成酵素活性の欠損株 (Somerville and Ogren, 1980)、RuBP カルボキシラーゼ活性化能欠損株 (Somerville et al., 1982) などが含まれている。

#### vii) 温度感受性突然変異体

シロイヌナズナの生育に必須な遺伝子を解析するために、高温感受性株または低温感受性株の分離が試みられており (Estelle and Somerville, 1986)、22°C では生育するが13°C では生育できない株が得られている (Hugly et al., 1988)。

ここに紹介した以外にも多くの突然変異体が分離解析されており、高等植物の種々の生物現象について調べられている。シロイヌナズナを用いることによって、ほとんどすべての存在可能な突然変異体が見られると考えられるが、重要なことは、目的とする突然変異体を効率よく識別する方法を考案することである。

### 3. 実験技術の開発

分離した突然変異体の遺伝解析から突然変異を生じた遺伝子の位置と性質を調べ、表現型の解析をおこなうことによってその遺伝子の機能を推定することができる。しかし、突然変異によって同定された遺伝子をクローニングして構造を決定するためには、いくつかの実験技術を用いる必要がある。この目的のために現在開発されている重要な実験方法を下に挙げる。

### i) RFLP 地図と染色体のクローニング

シロイヌナズナのゲノムサイズはハプロイドあたり  $7 \times 10^7$  塩基対であるから、コスミドベクターを用いてジェノミックライブラリーを作製すると、約2,500個のクローンでゲノムのほぼすべてを覆うことができる。Goodman らは、ジェノミックライブラリーからランダムに選んだクローンについて制限酵素地図を作り、互いに重なり合うクローンを捜すことによって、シロイヌナズナの全ゲノムのクローニングと制限酵素地図の作製を試みている。既に、約600個のコスミドクローンが39個の連続した領域にマップされている (Hauge et al., 1987)。

一方、このようにしてマップされたクローン DNA と遺伝解析によって作製された遺伝子地図との対応をつけるために、RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 地図が用いられる。シロイヌナズナには、異なった場所で採集された300種以上の野生型系統が知られている (Kranz and Kirchheim, 1987)。それらの DNA を制限酵素で切断し、得られた DNA 断片の大きさを比較することによって、野生型系統の間の DNA の塩基配列の相違を調べることができる。異なった塩基配列を持つ DNA 断片を多数集め、染色体地図の上にこれらの断片の位置をマップしたものが RFLP 地図である。最近発表されたシロイヌナズナの RFLP 地図には、約90個の DNA 断片が5本の染色体にほぼ均等にマップされている (Chang et al., 1988)。

この地図を用いると、任意の遺伝子から平均約1.9センチモルガン (シロイヌナズナでは約270キロ塩基対に相当する) 以内の距離に存在する特異的な DNA 断片を知ることができるので、この DNA 断片を含むコスミドクローンを出発材料としてつぎつぎとクローンを分離してゆく (クロモソームウォーキング) ならば、いずれ目的とする遺伝子を含むクローンが得られることになる。この方法によって、遺伝子クローニングに要する時間が短縮されるであろう。さらに、上述のゲノム全体の制限酵素地図と照らし合わせることによって、クローニングのスピードはもっと速くなると期待される。

### ii) 遺伝子導入と形質転換植物体の再生

分離した遺伝子の機能部位を調べたり発現制御機構を解析するためには、遺伝子を植物細胞内に導入して形質転換をおこなうことが重要な方法となる。また、分離しようとする遺伝子の構造が不明である場合には、形質転換植物 (トランスジェニック植物) の表現型から、導入した DNA 断片上に機能を持った遺伝子が存在することを確認しなければならない。

遺伝子導入による形質転換には、エレクトロポレーション法などを用いて DNA 断片を直接植物細胞内に入れる方法と、アグロバクテリアを介して導入する方法があるが、シロイヌナズナについて現在よく用いられているのは、後者である。Ti プラスミドを改変したベクタープラスミドを持ったアグロバクテリア (*Agrobacterium tumefaciens*) をシロイヌナズナの葉、莖、または根の細胞に感染させることによって細胞を形質転換させ、生じたカルスから形質転換植物体を再生させる系がいくつか報告されている (Lloyd et al., 1986; An et al., 1986; Klee et al., 1987 a; Sheikholeslam and Weeks, 1987; Valvekens et al., 1988)。また、発芽しようとする種子に感染させる方法 (Feldman and Marks, 1987) や別種のアグロバクテリア (*Agrobacterium rhizogenes*) を感染させ、生じた不定根から植物体を再生させる方法 (Van

Sluys et al., 1987) も知られている。

Ti プラスミドベクターを用いたシロイヌナズナのジェノミックライブラリーの作製 (Simoens, et al., 1986; Olszewski et al., 1988) や, シロイヌナズナのカルスまたはプロトプラストから植物体を効率よく再生させる技術 (Xuan and Menczel, 1980; Huang and Yeoman, 1984; Feldmann and Marks, 1986; Damm and Willmitzer, 1988) についてもいくつかの報告がある。

### iii) 遺伝子タギング

EMS などの突然変異誘発剤によって生じた突然変異は, そのほとんどが塩基置換であるから, 突然変異体の DNA を解析して, 変異が生じた位置を直接見いだすことはきわめて困難である。しかし, 既知の塩基配列を持った DNA 断片が染色体上に割込んで生じた挿入突然変異の場合には, その塩基配列部分をプローブとするハイブリダイゼーションによって変異をおこした遺伝子を分離することができる。この遺伝子タギング法をシロイヌナズナの系に応用するために, 種々のトランスポソンがシロイヌナズナ細胞内に導入され, 転移の頻度が調べられた。トウモロコシ由来のトランスポソンのうち, Mu 1 要素はシロイヌナズナ細胞内で転移しないと思われる (Zhang and Somerville, 1987) が, Ac (Activator) 要素は転移することが確かめられた (Van Sluys et al., 1987; C. Somerville, 私信) ので, これを用いた遺伝子タギングが可能になると考えられる。

また, 最近シロイヌナズナのゲノム上に, ショウジョウバエの copia 要素や酵母の Ty 要素と類似した塩基配列が見いだされた (Voytas and Ausubel, 1988)。この配列が転移要素であるか否かはまだ不明である。

ここに述べた実験技術を応用して, 突然変異体から変異遺伝子を実際に分離した例はまだ報告されていないが, 近い将来に可能になるであろう。

### おわりに

高等植物の体制は動物に比べるとずっと簡単で, 器官や組織の種類も少ないが, 動物よりも多くの二次代謝産物を合成しており, 生合成経路に多数の遺伝子が関与している。また, 植物細胞は互いに細胞壁によって強く連結されており, 動物細胞のように細胞間の接着の強さを変化させて移動することができないので, 植物の発生や成長過程においては, 細胞の分裂・成長の方向とタイミングが厳密に規定されている。さらに, 植物は種々の外環境の影響を強く受けて生理的な変化を起こし, 成長の度合や方向が変わるが, このことは, 種々の環境刺激を感知して反応する機構が遺伝的に規定されていることを示している。これらの遺伝的制御機構に関わる遺伝子も多数存在すると思われる。

Goldberg らは, タバコの各器官 (葉, 根, 莖, 花卉, 雄しべ, 雌しべ) から mRNA を抽出して種類と数を調べた (Kamalay and Goldberg, 1980; Goldberg, 1988)。いずれの器官にもほぼ同数 (24,000~27,000) の mRNA 種が見いだされたが, そのうちの約 3分の2はいくつかの器官で発現されており, 各器官に特異的な mRNA は6,000から10,000種類と概算された。シロイヌナズナにおいてもほぼ同じ数の遺伝子が発現していると考えられる。

これらの多数の遺伝子の中から重要なものを選択してその機能と構造を調べ, 高等植物の

遺伝的制御機構を解明するための第一歩は、適切な選抜方法を用いて、これらの遺伝子に変異を生じた突然変異体を多数分離することである。ついで変異遺伝子を同定分離して構造と発現の様相を解析することになる。本稿で述べたように、シロイヌナズナは突然変異体の分離と解析が容易である上に、遺伝子を同定して分離するための実験技術がつつぎに開発されているので、この目的にもっとも適した研究材料の一つである。シロイヌナズナを用いた高等植物の分子遺伝学研究は、今後ますます盛んになるとと思われる。また、これらの研究によって、シロイヌナズナのゲノム構造の成り立ちについても重要な示唆が得られると期待される。

#### 文献 (日本語)

- 藤井太朗 (1982) アラビドプシス。植物遺伝学実験法 (常脇恒一郎編) pp. 369-381, 共立出版。  
 原 襄 (1984) 花。植物の形態, 9章, pp. 191-196, 裳華房。  
 木原 均 監修 (1980) 植物遺伝学, I-V, 裳華房。  
 岡田清孝, 志村令郎 (1988) シロイヌナズナを用いた花芽分化過程の解析。細胞工学7, 920-924。  
 常脇恒一郎 (1982) 植物遺伝学実験法, 共立出版。

#### REFERENCES

- ABDULIAEV, Kh. A., USMANOV, P. D. and ISRAFILOVA, U. (1977) The effect of chromosome number in chloroplast structure and function in *Arabidopsis*. *Arabid. Inf. Serv.* 14, 69-73.  
 AN, G., WATSON, B. D. and CHIANG, C. C. (1986) Transformation of tobacco, tomato, potato, and *Arabidopsis thaliana* using a binary Ti vector system. *Plant Physiol.* 81, 301-305.  
 ARTUS, N. N. and SOMERVILLE, C. (1988) A mutant of *Arabidopsis thaliana* that exhibits chlorosis in air but not in atmospheres enriched in CO<sub>2</sub>. *Plant Physiol.* 87, 83-88.  
 BENNETT, M. D. and SMITH, J. B. (1976) Nuclear DNA amounts in angiosperms. *Philosophical Trans. Royal Soc. London, B*, 274, 227-274.  
 BERGER, B. (1968) Entwicklungsgeschichtliche und chromosomale Ursachen der verschiedenen Kreuzungsverträglichkeit zwischen Arten des Verwandtschaftskreises *Arabidopsis*. *Beitr. Biol. Pflanzen.* 45, 171-212.  
 BLEECKER, A. B., ESTELLE, M. A., SOMERVILLE, C. and KENDE, H. (1988) Insensitivity to ethylene conferred by a dominant mutation in *Arabidopsis thaliana*. *Science* 241, 1086-1089.  
 BOWMAN, J. L., SMYTH, D. R. and MEYEROWITZ, E. M. (1989) Genes directing flower development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell* 1, 37-52.  
 BRAAKSMA, F. and FEENSTRA, W. (1982) Isolation and characterization of nitrate reductase-deficient mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Theor. Appl. Genet.* 64, 83-90.  
 BROWSE, J., McCOURT, P. and SOMERVILLE, C. R. (1985) A mutant of *Arabidopsis* lacking a chloroplast-specific lipid. *Science* 227, 763-765.  
 BURKE, T. J., CALLIS, J. and VIERSTRA, R. D. (1988) Characterization of a polyubiquitin gene from *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 213, 435-443.  
 CASEY, R. and DOMONEY, C. (1987) The structure of plant storage protein genes. *Plant Mol. Biol. Report.* 5, 261-281.  
 CASPAR, T., HUBER, S. C. and SOMERVILLE, C. R. (1985 a) Alterations in growth, photosynthesis, and respiration in a starchless mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) deficient in chloroplast phosphoglucomutase activity. *Plant Physiol.* 79, 11-17.  
 CASPAR, T., SOMERVILLE, C. and PICKARD, B. G. (1985 b) Geotropic roots and shoots of a starch-free mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiol. (suppl.)* 77, 105.

- CHABOUTE, M.-E., CHAUBET, N., PHILIPPS, G., EHLING, M. and GIGOT, C. (1987) Genomic organization and nucleotide sequences of two histone H3 and two histone H4 genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molec. Biol.* 8, 179-191.
- CHANG, C. and MEYEROWITZ, E. M. (1986) Molecular cloning and DNA sequence of the *Arabidopsis thaliana* alcohol dehydrogenase gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83, 1408-1412.
- CHANG, C., BOWMAN, J. L., DEJOHN, A. W., LANDER, E. S. and MEYEROWITZ, E. M. (1988) Restriction fragment length polymorphism linkage map for *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 6856-6860.
- CRAWFORD, N. M., SMITH, M., BELLISSIMO, D. and DAVIS, R. W. (1988) Sequence and nitrate regulation of the *Arabidopsis thaliana* mRNA encoding nitrate reductase, a metalloflavoprotein with three functional domains. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 5006-5010.
- DAMM, B. and WILLMITZER, L. (1988) Regeneration of fertile plants from protoplasts of different *Arabidopsis thaliana* genotypes. *Mol. Gen. Genet.* 213, 15-20.
- ESAU, K. (1977) *Anatomy of seed plants*. (2nd. ed.) chap. 20, pp. 375-401. Wiley & Sons, New York.
- ESTELLE, M. A. and SOMERVILLE, C. R. (1986) The mutants of *Arabidopsis*. *Trends in Genet.* 2, 89-93.
- ESTELLE, M. A. and SOMERVILLE, C. R. (1987) Auxin-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana* with an altered morphology. *Mol. Gen. Genet.* 206, 200-206.
- EVANS, M. L., MOORE, R. and HANSENSTEIN, K.-H. (1986) How roots respond to gravity. *Sci. Amer.*, Dec. 100-107.
- FEENSTRA, W. J. (1965) Production of thiamineless mutants. *Arabid. Inf. Serv.* 2, 24.
- FEINBAUM, R. L. and AUSUBEL, F. M. (1988) Transcriptional regulation of the *Arabidopsis thaliana* chalcone synthase gene. *Molec. Cell. Biol.* 8, 1985-1992.
- FELDMANN, K. A. and MARKS, M. D. (1986) Rapid and efficient regeneration of plants from explants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.* 47, 63-69.
- FELDMAN, K. A. and MARKS, M. D. (1987) *Agrobacterium*-mediated transformation of germinating seeds of *Arabidopsis thaliana*: A non-tissue culture approach. *Mol. Gen. Genet.* 208, 1-9.
- FINK, G. R. (1988) Notes of a bigamous biologist. *Genetics* 118, 549-550.
- GOLDBERG, R. B. (1988) Plants: Novel developmental processes. *Science* 240, 1460-1467.
- HAUGE, B., FRITZE, C., NAM, H.-G., PAEK, K.-H. and GOODMAN, H. M. (1987) Progress in constructing a physical map of the *Arabidopsis thaliana* genome. *3rd Intern. Meeting on Arabidopsis*. (Abstract) No. 32.
- HAUGHN, G. W. and SOMERVILLE, C. R. (1986) Sulfonyleurea-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 204, 430-434.
- HAUGHN, G. W. and SOMERVILLE, C. R. (1988) Genetic control of morphogenesis in *Arabidopsis*. *Develop. Genet.* 9, 73-89.
- HAUGHN, G. W., SMITH, J., MAZUR, B. and SOMERVILLE, C. (1988) Transformation with a mutant *Arabidopsis* acetolactate synthase gene renders tobacco resistant to sulfonyleurea herbicides. *Mol. Gen. Genet.* 211, 266-271.
- HEATH, J. D., WELDON, R., MONNOT, C. and MEINKE, D. W. (1986) Analysis of storage proteins in normal and aborted seeds from embryo-lethal mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Planta* 169, 304-312.
- HUANG, B. C. and YEOMAN, M. M. (1984) Callus proliferation and morphogenesis in tissue cultures of *Arabidopsis thaliana* L. *Plant Science Letters* 33, 353-363.
- HUGLY, S., MCCOURT, P. and SOMERVILLE, C. R. (1988) Analysis of a chilling-sensitive mutant of *Arabidopsis thaliana* altered in sterol ester metabolism. *Plant Physiol.* 86, 51.
- JUNIPER, B. E. (1976) Geotropism. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 27, 385-406.
- KAMALAY, J. C. and GOLDBERG, R. B. (1980) Regulation of structural gene expression in tobacco. *Cell* 19, 935-946.
- KARLIN-NEUMANN, G. A., KOHORN, B. D., THORNBER, J. P. and TOBIN, E. M. (1985) A chlorophyll a/b binding protein encoded by a gene containing an intron with characteristics of a transposable element. *J. Molec. Appl. Genet.* 3, 45-61.

- KLEE, H. J., HAYFORD, M. B. and ROGERS, S. G. (1987) Gene rescue in plants: a model system for "shotgun" cloning by retransformation. *Mol. Gen. Genet.* **210**, 282–287.
- KLEE, H. J., MUSKOPF, Y. M. and GASSER, C. S. (1987 b) Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Mol. Gen. Genet.* **210**, 437–442.
- KOMAKI, M. K., OKADA, K., NISHINO, E. and SHIMURA, Y. (1988) Isolation and characterization of novel mutants of *Arabidopsis thaliana* defective in flower development. *Development* **104**, 195–203.
- KOMEDA, Y., TANAKA, M., NISHIMUNE, T. (1988) A *th-1* mutant of *Arabidopsis thaliana* is defective for a thiamine-phosphate-synthesizing enzyme: thiamine phosphate pyrophosphorylase. *Plant Physiol.* **88**, 248–250.
- KOORNNEEF, M. and VAN DER VEEN, J. H. (1980) Induction and analysis of gibberellin sensitive mutants in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Theor. Appl. Genet.* **58**, 257–263.
- KOORNNEEF, M., DE BRUINE, J. H. and GOETTSCHE, P. (1980 a) A provisional map of chromosome 4 of *Arabidopsis*. *Arabid. Inf. Serv.* **17**, 11–18.
- KOORNNEEF, M., ROLFF, E. and SPRUIT, C. J. P. (1980 b) GENETIC control of light-inhibited hypocotyl elongation in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Z. Pflanzenphysiol.* **100**, 147–160.
- KOORNNEEF, M., JORNA, M. L., BRINKHORST-VAN DER SWAN, D. L. C. and KARSSSEN, C. M. (1982) The isolation of abscisic acid (ABA) deficient mutants by selection of induced revertants in non-germinating gibberellin sensitive lines of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Theor. Appl. Genet.* **61**, 385–393.
- KOORNNEEF, M., VAN EDEN, J., HANHART, C. J., STAM, P., BRAAKSMA, F. J. and FEENSTRA, W. J. (1983) Linkage map of *Arabidopsis thaliana*. *J. Hered.* **74**, 265–272.
- KOORNNEEF, M., REULING, G. and KARSSSEN, C. M. (1984) The isolation and characterization of abscisic acid-insensitive mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* **61**, 377–383.
- KOORNNEEF, M., ELGERSMA, A., HANHART, C. J., VAN LOENEN-MARTINET, E. P., VAN RIJN, L. and ZEEVAART, J. A. D. (1985) A gibberellin insensitive mutant of *Arabidopsis thaliana*. *Physiol. Plant.* **65**, 33–39.
- KOORNNEEF, M. (1987) Linkage map of *Arabidopsis thaliana*. In: *Genetic maps* (ed.: S. J. O'Brien), vol. 4, pp. 742–745. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- KRANZ, A. R. and KIRCHHEIM, B. (1987) Genetic resources in *Arabidopsis*. *Arbid. Inf. Serv.* vol. 24. (computerized list).
- KUNST, L., BROWSE, J. and SOMERVILLE, C. (1988) Altered regulation of lipid biosynthesis in a mutant of *Arabidopsis* deficient in chloroplast glycerol-3-phosphate acyltransferase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 4143–4147.
- LAIBACH, F. (1958) Über den Artbastard *Arabidopsis suecica* (FR.) Norrl.  $\times$  *A. thaliana* (L.) Heynh. und die Beziehungen zwischen den Gattungen *Arabidopsis* Heynh. und *Cardaminopsis* (C. A. Meyer) Hay. *Planta* **51**, 148–166.
- LAST, R. L. and FINK, G. R. (1988) Tryptophan-requiring mutants of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Science* **240**, 305–310.
- LEUTWILER, L. S., HOUGH-EVANS, B. R. and MEYEROWITZ, E. M. (1984) The DNA of *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* **194**, 15–23.
- LEUTWILER, L. S., MEYEROWITZ, E. M. and TOBIN, E. M. (1986) Structure and expression of three light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein genes in *Arabidopsis thaliana*. *Nucl. Acids Res.* **14**, 4051–4064.
- LI, S. L. and RÉDEI, G. P. (1969) Thiamine mutants of the cruifer, *Arabidopsis*. *Biochem. Genet.* **3**, 163–170.
- LIN, T.-P., CASPAR, T., SOMERVILLE, C. and PREISS, J. (1988) Isolation and characterization of a starchless mutant of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh lacking ADP-glucose pyrophosphorylase activity. *Plant Physiol.* **86**, 1131–1135.
- LLOYD, A. M., BARNASON, A. R., ROGERS, S. G., BYRNE, M. C., FRALEY, R. T. and HORSCH, R. B. (1986) Transformation of *Arabidopsis thaliana* with *Agrobacterium tumefaciens*. *Science* **234**, 464–466.
- LUDWIG, S. R., OPPENHEIMER, D. G., SILFLOW, C. D. and SNUSTAD, D. P. (1987) Characterization of the  $\alpha$ -tubulin gene family of *Arabidopsis thaliana*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 5833–5837.

- MAHER, E. P. and MARTINDALE, S. J. B. (1980) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with altered responses to auxins and gravity. *Biochem. Genet.* 18, 1041-1053.
- MANTON, I. (1932) Introduction to the general cytology of the cruciferae. *Ann. Bot.* 46, 509-556.
- MARKS, M. D., WEST, J. and WEEKS, D. P. (1987) The relatively large beta-tubulin gene family of *Arabidopsis* contains a member with an unusual transcribed 5' noncoding sequence. *Plant Molec. Biol.* 10, 91-104.
- MARTINEZ-ZAPATER, J. M., ESTELLE, M. A. and SOMERVILLE, C. R. (1986) A highly repeated DNA sequence in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.* 204, 417-423.
- MAZUR, B. J., CHUI, C. F. and SMITH, J. K. (1987) Isolation and characterization of plant genes coding for acetolactate synthase, the target enzyme for two classes of herbicides. *Plant Physiol.* 85, 1110-1117.
- MCCOURT, P. and SOMERVILLE, C. R. (1987) The use of mutants for the study of plant metabolism. In: *The Biochemistry of Plants*, vol. 13 (ed.: D. D. Davies), chap. 2, pp. 33-64. Academic Press, New York.
- MCKELVIE, A. D. (1962) A list of mutant genes in *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. *Radiation Botany* 1, 233-241.
- MEINKE, D. W. and SUSSEX, I. M. (1979 a) Embryo-lethal mutants of *Arabidopsis thaliana*: A model system for genetic analysis of plant embryo development. *Develop. Biol.* 72, 50-61.
- MEINKE, D. W. and SUSSEX, I. M. (1979 b) Isolation and characterization of six embryo-lethal mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Develop. Biol.* 72, 62-72.
- MEINKE, D. W. (1987) Developmental and molecular genetics of embryogenesis in *Arabidopsis thaliana*. 3rd International Meeting on *Arabidopsis*, Michigan State University, No. 64.
- MEYEROWITZ, E. M. (1987) *Arabidopsis thaliana*. *Ann. Rev. Genet.* 21, 93-111.
- MEYEROWITZ, E. M. and PRUITT, R. E. (1985) *Arabidopsis thaliana* and plant molecular genetics. *Science* 229, 1214-1218.
- MIRZA, J. I. and MAHER, P. (1987) Physiological characteristics of two auxin-resistant mutants of *Arabidopsis thaliana*, *aux-2* and *Duf*. *Plant Growth Regulation* 5, 41-49.
- MOORE, R. and EVANS, M. L. (1986) How roots perceive and respond to gravity. *Amer. J. Bot.* 73, 574-587.
- MOYZIS, R. K., BUCKINGHAM, J. M., GRAM, L. S., DAN, M., DEAVEN, L. L., JONES, M. D., MEYNE, J., RATLIFF, R. L. and WU, J.-R. (1988) A highly conserved repetitive DNA sequence, (TTAGGG)<sub>n</sub>, present at the telomeres of human chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 6622-6626.
- NAIRN, C. J., WINESETT, L. and FERL, R. J. (1988) Nucleotide sequence of an actin gene from *Arabidopsis thaliana*. *Gene*, 65, 247-257.
- O'BRIEN, S. J. (1987) *Genetic Maps 1987*. Cold Spring Harbor Laboratory, New York.
- OLSZEWSKI, N. E., MARTIN, F. B., AUSUBEL, F. M. (1988) Specialized binary vector for plant transformation: expression of the *Arabidopsis thaliana* AHAS gene in *Nicotiana tabacum*. *Nucl. Acids Res.* 16, 10765-10782.
- PANG, P. P. and MEYEROWITZ, E. M. (1987) *Arabidopsis thaliana*: A model system for plant molecular biology. *Biootechnology* 5, 1177-1181.
- POFF, K., BEST, T., GREGG, M. and REN, Z. (1987) Mutants of *Arabidopsis thaliana* with altered phototropism and/or altered geotropism. 3rd Intl. Meeting on *Arabidopsis*, Abstract, No. 79.
- PRUITT, R. E. and MEYEROWITZ, E. M. (1986) Characterization of the genome of *Arabidopsis thaliana*. *J. Mol. Biol.* 187, 169-183.
- PRUITT, R. E., CHANG, C. PANG, P. P.-Y. and MEYEROWITZ, E. M. (1987) Molecular genetics and development of *Arabidopsis*. In: *Genetic Regulation of Development* (ed.: W. Loomis), chap. 16, pp. 327-338. Alan Liss, New York.
- RÉDEI, G. P. (1974) *Arabidopsis thaliana*. In: *Handbook of Genetics* (ed.: R. C. King) vol. 2, chap. 8, pp. 151-180. Plenum, New York.
- RÉDEI, G. P. (1975) *Arabidopsis* as a genetic tool. *Ann. Rev. Genet.* 9, 111-127.
- RICHARDS, E. J. and AUSUBEL, F. M. (1988) Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 53, 127-136.
- ROBERTS, L. (1988) Chromosomes: The ends in view. *Science* 240, 982-983.

- SCHNEIDER, T., DINKINS, R., ROBINSON, K., SHELLHAMMER, J. and MEINKE, D. W. (1989) An embryo-lethal mutant of *Arabidopsis thaliana* is a biotin auxotroph. *Develop. Biol.* **131**, 161–167.
- SHELLHAMMER, J., DINKINS, R., SCHNEIDER, T., ROBINSON, K. and MEINKE, D. (1987) A biotin-requiring embryo-lethal mutant of *Arabidopsis thaliana*. *3rd Intl. Meeting on Arabidopsis*, Abstract, No. 76.
- SHEIKHOLESLAM, S. N. and WEEKS, D. P. (1987) Acetosyringone promotes high efficiency transformation of *Arabidopsis thaliana* explants by *Agrobacterium tumefaciens*. *Plant Molec. Biol.* **8**, 291–298.
- SHEN-MILLER, J. and HINCHMAN, R. R. (1974) Gravity sensing in plants: A critique of the statolith theory. *BioScience* **24**, 643–651.
- SIMOENS, C., ALLIOTTE, Th., MENDEL, R., MÜLLER, A., SCHIEMANN, J., VAN LIJSEBETTENS, M., SCHELL, J., VAN MONTAGU, M. and INZÉ, D. (1986) A binary vector for transferring genomic libraries to plants. *Nucl. Acids Res.* **14**, 8073–8090.
- SIMOENS, C. R., PELEMAN, J., VALVEKENS, D., VAN MONTAGU, M. and INZÉ, D. (1988 a) Isolation of genes expressed in specific tissues of *Arabidopsis thaliana* by differential screening of a genomic library. *Gene* **67**, 1–11.
- SIMOENS, C. R., GIELEN, J., VAN MONTAGU, M. and INZÉ, D. (1988 b) Characterization of highly repetitive sequences of *Arabidopsis thaliana*. *Nucl. Acids Res.* **16**, 6753–6766.
- SOMERVILLE, C. R. and OGREN, W. L. (1979) A phosphoglycolate phosphatase-deficient mutant of *Arabidopsis*. *Nature* **280**, 833–836.
- SOMERVILLE, C. R. and OGREN, W. L. (1980) Inhibition of photosynthesis in *Arabidopsis* mutants lacking leaf glutamate synthase activity. *Nature* **286**, 257–259.
- SOMERVILLE, C. R. and OGREN, W. L. (1982) Isolation of photorespiration mutants in *Arabidopsis thaliana*. In: *Methods in chloroplast molecular biology* (eds.: M. Edelman, R. B. Hallick, N.-H. Chua), pp. 129–138. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam.
- SOMERVILLE, C. R., PORTIS, A. R., Jr. and OGREN, W. L. (1982) A mutant of *Arabidopsis thaliana* which lacks activation of RuBP carboxylase *in vivo*. *Plant Physiol.* **70**, 381–387.
- SPORNE, K. R. (1976) Character correlations among angiosperms and the importance of fossil evidence in assessing their significance. In: *Origin and early evolution of angiosperms* (ed.: C. B. Beck), pp. 312–329. Columbia Univ. Press, New York.
- STEBBINS, G. L. (1974) Trends of specialization within the angiosperms. In: *Flowering plants — Evolution above the species level*. chap. 11, pp. 246–282. Belknap Press of Harvard Univ. Press, Massachusetts.
- UNGER, E. A., HAND, J. M., CASHMORE, A. R. and VASCONCELOS, A. C. (1988) Isolation and characterization of a cDNA encoding citrate synthase from *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol. (suppl.)* **86**, 17.
- VALVEKENS, D., VAN MONTAGU, M. and VAN LIJSEBETTENS, M. (1988) *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of *Arabidopsis thaliana* root explants by using kanamycin selection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 5536–5540.
- VAN SLUYS, M. A., TEMPÉ, J. and FEDOROFF, N. (1987) Studies on the introduction and mobility of the maize *Activator* element in *Arabidopsis thaliana* and *Daucus carota*. *EMBO J.* **6**, 3881–3889.
- VANKAN, P. and FILIPOWICZ, W. (1988) Structure of U2 snRAN genes of *Arabidopsis thaliana* and their expression in electroporated plant protoplasts. *EMBO J.* **7**, 791–799.
- VANKAN, P., EDOH, D., FILIPOWICZ, W. (1988) Structure and expression of the U5 snRNA gene of *Arabidopsis thaliana*. Conserved upstream sequence elements in plant U-RNA genes. *Nucl. Acids Res.* **16**, 10425–10440.
- VORST, O., OOSTERHOFF-TEERTSTRA, R., VANKAN, P., SMEEKENS, S. and WEISBEEK, P. (1988) Plastocyanin of *Arabidopsis thaliana*; isolation and characterization of the gene and chloroplast import of the precursor protein. *Gene* **65**, 59–69.
- VOYTAS, D. F. and AUSUBEL, F. M. (1988) A copia-like transposable element family in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **336**, 242–244.
- WU, C. H., CASPAR, T., BROWSE, J., LINDQUIST, S., SOMERVILLE, C. (1988) Characterization of an HSP70 cognate gene family in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.* **88**, 731–740.

- XUAN, L. T. and MENCZEL, L. (1980) Improved protoplast culture and plant regeneration from protoplast-derived callus in *Arabidopsis thaliana*. *Z. Pflanzenphysiol.* **96**, 77-80.
- ZHANG, H. and SOMERVILLE, C. R. (1987) Transfer of the maize transposable element *Mu 1* into *Arabidopsis thaliana*. *Plant Science*, **48**, 165-173.