

## タバコ葉の形の成長解析

秦野 彰二<sup>1</sup>, 松岡 信<sup>1</sup>, 橋本 篤<sup>2</sup>, 亀岡 孝治<sup>2</sup>

1. 名古屋大学生物分子応答研究センター, 2. 三重大学生物資源学部

### 摘要

成長するタバコの葉の形について、フラクタル次元を求めたところ、遺伝子工学的に改変した形質転換体（形態形成に深く関わりとされるホメオボックス遺伝子を異所的に強制発現させた）、野生型ともに**フラクタル次元が一定のまま成長すること**が判明した。形質転換体試料間の葉の実際の形態は、著しく異なっており、葉脈などの葉の要素に還元して説明することは困難と考えられる。

### 序

植物の葉の形は複雑であり、成長するにつれて形自体も変化する。また、遺伝の影響も著しく、植物の葉の形態形成には、ホメオボックス遺伝子が関与していることが明らかになっている。ホメオボックス遺伝子は形態形成において、重要な役割を果たす遺伝子で、ショウジョウバエ(*Drosophila*)において詳細な研究がなされている。

植物の葉の形態形成機構を研究するため、ホメオボックス遺伝子を改変したタバコ(*Nicotiana tabacum*)を作成したところ、成長するにつれて、異常な形態の葉をつけるものが多く得られた。また、形質転換株ごとに葉の形態異常の度合いも異なっていた<sup>1)</sup>(図1)。

一方、形の複雑度を評価する手法としてはフラクタル解析法が知られており、樹木や神経の分枝から、脳波や癌の形態に至るまで様々な対象に應用されている<sup>2)</sup>。

そこで、成長の各段階におけるタバコの葉について、画像処理により原画像の二値化と輪郭抽出を行い、同時に周囲長および面積を測定し、形の成長のフラクタル解析を行った。

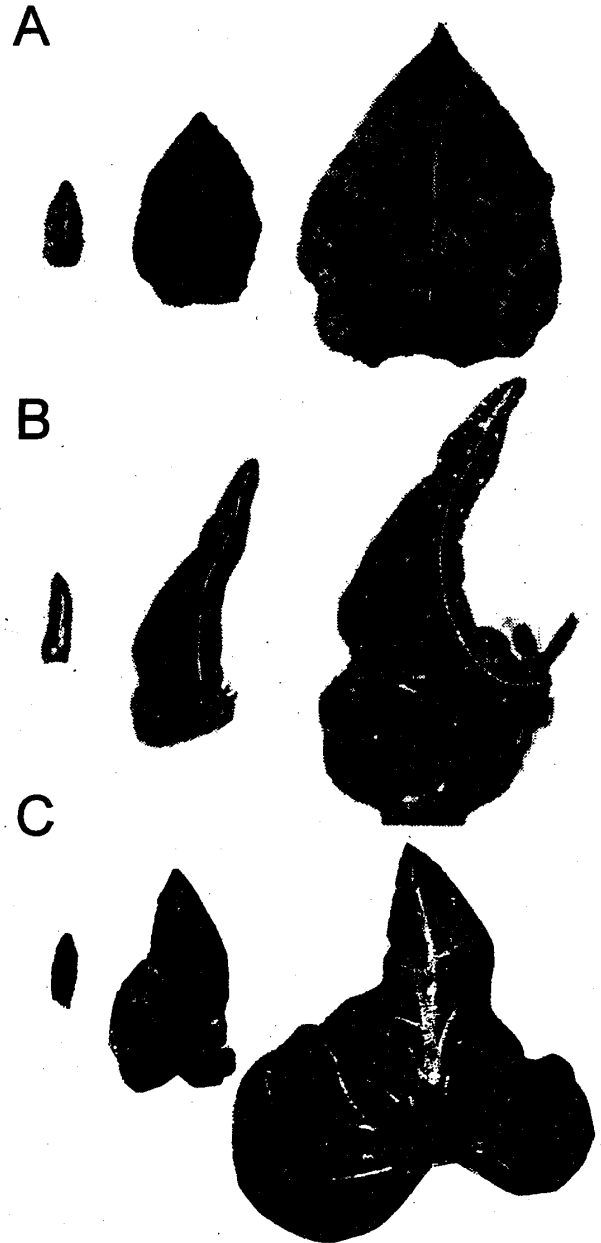


図1. タバコ葉の形の成長。

A: 野生型 (表1: WT1), B, C: イネホメオボックス遺伝子 *OSH1* をタバコ PR2 プロモータ制御下で野生型タバコに導入した形質転換体 (表1: #3, #4)。

方法

タバコ (*Nicotiana tabacum*) は品種 Sansun NN の野生型及び形質転換体を用いた。形質転換体はイネ (*Oryza sativa*) ホメオボックス遺伝子 OSH1 をタバコ PR2A プロモーター (茎頂のみで発現) につないで導入したものをを用いた<sup>1)</sup>。第9-10葉 (根側から数える) の主脈の長さが約2cm になった時点を目安とし、1日ずつ5-10日間に渡って写真を撮影した。撮影した写真をイメージスキャナで読みとり、画像解析処理ソフトウェア (亀岡ら, 未発表) を用いて、葉の輪郭を抽出し、面積(S)と周囲の長さ(l)を算出した後、定法に基づいてフラクタル解析を行った<sup>2)</sup>。

結果及び考察

葉の形が自己相似性を持つものとして、フラクタル次元を以下の方法によって求めた。長さL、面積S、体積V、D次元測度をもつ量をXとすれば、 $L \propto S^{1/2} \propto V^{1/3} \propto X^{1/D}$ が成立する。よって、Xを周囲長lとすれば葉の面積Sとの関係は  $S^{1/2} \propto l^{1/D}$  となる。これを両対数グラフにあらわして1次回帰によりDを算出し (図2)、形の成長におけるフラクタル次元とした<sup>2)</sup>。その結果、野生型のタバコでは、供試した2つの試料においてフラクタル次元が0.96となり一致した。また、形質転換タバコでは、1.01-1.12とばらつきが出たが、複雑な形態に成長していくものほど高い数字を示す傾向にあった (表1)。また、供試した試料が異なる形に成長していくにも関わらず (例、図1B, C)、全ての試料において、面積の対数と周囲長の対数を直線回帰した結果、相関係数は0.99以上となり、**フラクタル次元は成長に対して一定である**ことが分かった (図2、表1)。

この一定性は、従来の要素還元論的な枠組みでは解釈が難しい。その理由は、葉を構成する要素である葉脈や葉肉で起きている事象が、用いた試料ごとにかなり異なっているように見えるからである。例えば、いくつかの形質転換体では、主葉脈の伸びが悪いので、葉の縁が波打ったようになり、フラクタル次元を押し上げる要因となっている (図1C)。また別の形質転換体では、左右の葉の成長の度合いが異なり主葉脈が曲がって、葉の輪郭が左右で著し

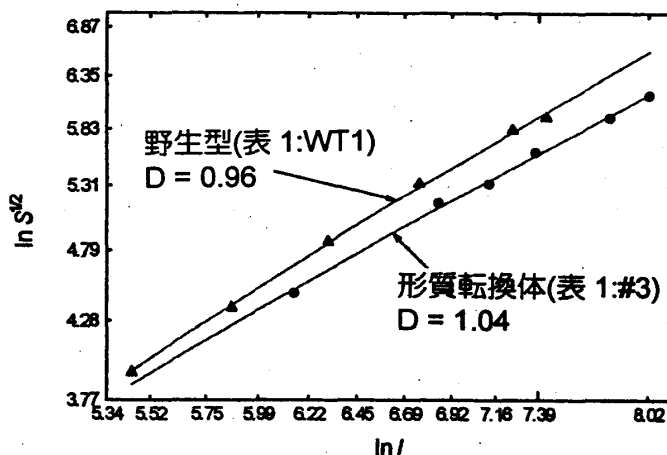


図2. タバコ葉の形のフラクタル次元は成長中一定 (Dはフラクタル次元)。

表1. フラクタル解析の結果

試料	周囲長のフラクタル次元	相関係数
野生型 WT 1	0.96	0.999
WT 2	0.96	0.999
形質転換体 # 1	1.01	1.000
# 2	1.11	0.998
# 3	1.04	0.999
# 4	1.07	0.999
# 5	1.08	0.999
# 7	1.02	0.999
# 8	1.12	0.999

く異なっている(図 1B)。ところが、何れの試料においても成長に対してフラクタル次元は一定であった。このように考えると、この**フラクタル次元も葉の構成要素に還元して説明するのは困難である**。

さらに捕捉を加えるなら、このフラクタル次元一定則は、成長初期から葉の輪廓形状自体の複雑度が決まっていることに起因するものではない。なぜなら、成長の初期段階において葉の形状は各試料間であまり違いはなく、成長するにつれて著しい差が生じるからである(図 1)。つまり、葉の形状自体は成長に対して動的に変化していることになる。このとき、形質転換体の中でも、より複雑な形状に成長する試料は、高いフラクタル次元を示す。一方で、野生型では 1.0 を切り、成長するにつれて葉の形状の複雑度が薄れていく(丸くなる)。このことは、フラクタル次元は、動的な成長において、複雑な形状に変化するかどうかの度合いに深く関係していることを示唆している。

同じ DNA 断片を用いて形質転換を行っても、環境一定の条件下で全く形質が同じになるわけではないことにも留意する必要がある。この原因には、一般的に言って、DNA 断片が挿入される染色体の位置や、コピー数という、ある意味で塩基配列を越えた情報が関わっているとされる。また、同様に挿入された DNA 断片でも、同じ植物体の、同種だが異なる位置にある組織において、DNA のメチル化の度合い(生体内でメチル化されると発現しにくくなる)が異なっている場合も考えられ<sup>3)</sup>、DNA と形質の対応関係を複雑かつ困難なものにしている(本論からはずれるが、用いた形質転換タバコには大腸菌由来の DNA 断片も含まれるが、どう考えてもいわゆる大腸菌的な性質を認めることが出来ない)。にも関わらず、本研究が明らかにしたように、タバコ葉の形のフラクタル次元は(形質転換体、野生型を問わず)成長に対して一定であった。形質が DNA だけの明示的規則に還元し尽くされず、かつ背後に同一性が抽出されうるという事態は、生命のシステムを考える上で極めて重要であると言わざるを得ない。この思考の延長上にほの見えるのは、設計図に比喻される物質的実体としての DNA の「複製」と、その突然変異と自然選択によって駆動される「進化」という生物像に対する深刻な異議の表明である。遺伝子工学的操作のみならず、有性生殖やウイルスの感染などの、DNA の変化を引き起こす各種の事象において、複製に不連続面が散見されるのは明らかであるし、そういった DNA の変化が形質の変化を引き起こすような事例が多い。しかし、上述のように単純な DNA という実体みの情報には還元不可能な事例が存在するのも事実である。生物学の法則が、物理学の法則と異なるのは、例外が存在するという点らしい。生物学の法則を、物理学に代表される厳密な科学の俎上にのせようとするなら、例外の説明が不可欠ではないかと思われる。「実体」の「複製」という、余りにも簡略化されたスキームでは生命を語る事が出来ないのではないだろうか。

#### 謝辞

有益な助言を頂きました。農林水産省農業研究センターの二宮正士先生に感謝します。

#### 参考文献

- 1) Sato, et al. (1996). *Mol. Gen. Genet.* **251**:13-22.
- 2) 品川嘉也ら (1992). 医学・生物学とフラクタル解析 (東京書籍)。
- 3) 島本功 (1996). 植物のゲノムサイエンス (秀潤社刊) 第四章エピジェネティックな遺伝の分子的基础