

# 林木中MADS-box基因之選殖與研究

- ◎林業試驗所育林組·吳家禎 (chiachen@tfri.gov.tw)
- ◎國立臺灣大學森林環境暨資源學系·曲芳華

植物生殖現象極為複雜，不論是外在環境或是植物本身內在因子都會影響植物生殖反應，其中一個重要的關鍵即為植物生殖器官的形成。在被子植物中的生殖器官就是花，具有雄蕊與雌蕊(或是雄花與雌花)，在裸子植物中就是雄毬花或是雌毬花。若從基因的層次著眼，植物體內因著不同基因間的相互作用，將促使植物最終發育分化形成生殖器官(花器)。

木本植物不同於一年生的農作物，要具備有開花的能力往往要經過很長的一段時間，而木本植物更需在經過幼年期之後才會開花結實，這段時間可以長達數年，甚至十、二十年都有可能。因此，研究開花相關基因是極為重要的議題。

在瞭解植物開花基因時，首先一定要認識MADS-box基因家族(gene family)及ABC模式(ABC model)，說明如下。

## MADS-box基因家族

為一個龐大的基因家族，此家族中，每個基因其最終轉譯(translate)成蛋白質的N端序列都存在一個保守性(相似性)極高的序列區塊，這個區塊稱為MADS區塊(MADS domain)，此區塊約有60個胺基酸，含有此區塊的蛋白質序列，其基因都會被歸類至MADS-box基因家族。

而MADS-box基因廣泛的分佈於生物界裡面，在動物界、植物界及真菌中都可以發現其蹤跡，算是很古老的一個基因家族，因此，研究MADS-box基因不單可以幫助我們了

解植物開花基因的機制，近年來MADS-box家族更成為演化的指標基因，在於植物演化上的推演是個非常重要的角色；另外，MADS-box基因家族多屬於轉錄因子(transcription factor)，調控許多重要生理功能，針對植物體花器而言，其功能包括：改變花的特性(floral identity)、控制開花的時間(flowering time)、或是控制幼年到成熟期的轉變(transition)等。

## ABC模式

ABC模式主要是在闡述三種功能型基因(分成A功能型基因、B功能型基因、C功能型基因)在不同的交互反應之下，調控花器的型態。當不同功能型的基因被啟動或突變，進而使得植物花器構造(花萼、花瓣、雄蕊、雌蕊)產生變化。A功能型基因是專一地控制萼片，C功能型基因是專一地控制心皮，B功能型基因可以和A與C功能型基因交互作用(AB功能型結合就可產生花瓣，BC功能型結合就可產生雄蕊)，以上即為ABC模式(圖1)。隨著分子生物學的不斷進步，ABC模式已經不能完全的套用在各個不同種類的植物上，於是ABCDE模式及ABCE模式也相繼被科學家提出，顯示出植物開花生理在基因層次上的多變性。

目前針對臺灣原生木本植物在MADS-box基因的研究，僅有筆者針對臺灣雲杉(*Picea morrissonicola*)及臺灣肖楠(*Calocedrus formosana*)進行基因選殖，仍然有很大的發展空間。以下將針對臺灣雲杉PMHMADS基因與臺灣肖楠CFMADS1基因的研究成果做說明：

於臺灣雲杉毬果中選殖MADS-box基因一條，共選殖到856個鹼基對(base pair, bp)，其蛋白質轉譯區有669個核苷酸，命名為PMHMADS (accession number: DQ295803)，此核苷酸序列在National Center for Bioinformatics (NCBI)網站上比對的結果和挪威雲杉

(*Picea abies*)美國赤松(*Pinus resinosa*)、放射松(*Pinus radiata*)、黑雲杉(*Picea mariana*)中的MADS-box基因相似度達95%以上，並挑選序列相似度達70%以上的針葉樹種胺基酸序列建構親源關係圖(Phylogenetic tree)(accession number: CAA55867, AAD01266, AAD09342, AAM76208, AAM74074, CAB44449, BAG48498)，方法如下：使用MEGA4.1軟體，以UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean)的矩陣運算方法建構親源關係圖，在胺基酸序列中，一般選用伯松修正(poisson correction model)計算距離，重複進行1,000次分析，以bootstrap value作為分支可信度的依據。

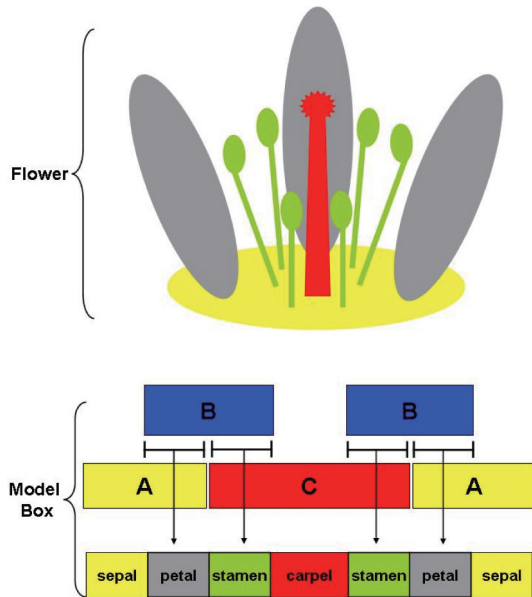


圖1 ABC模式示意圖。說明了三種不同功能型的基因，並分別調控花器內的不同構造，其中箭頭部分表達出不同功能型基因的交互作用(吳家禎 繪製)

在親源關係圖(圖2)的結果中可以明顯地看出松科、杉科、銀杏科及蘇鐵科坐落於不同的分支上，推測因為臺灣雲杉是臺灣特有一種，且生態演化的觀點中，因為臺灣具有長期的島嶼隔離效應，使得此基因在親緣關係圖上呈現和其他松科植物區分的現象。

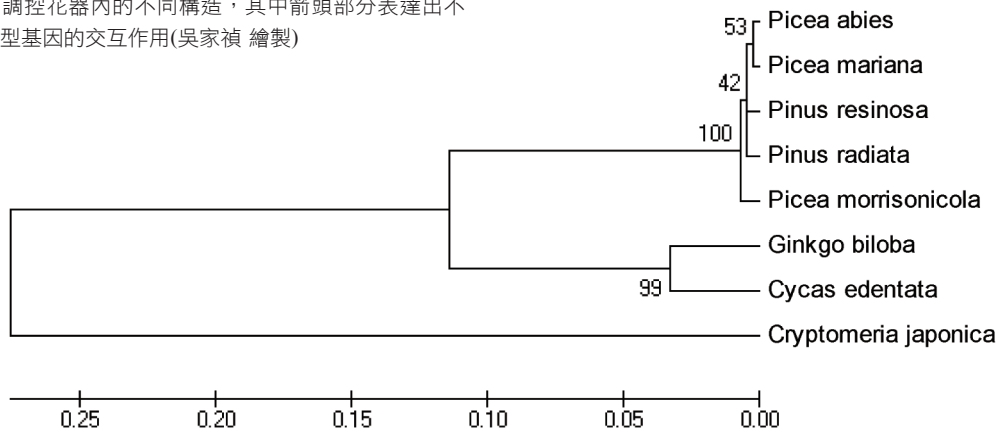


圖2 根據PMHMADS胺基酸序列和其他物種之MADS-box胺基酸序列建構演化樹，下方比例尺顯示為遺傳距離(genetic distance)

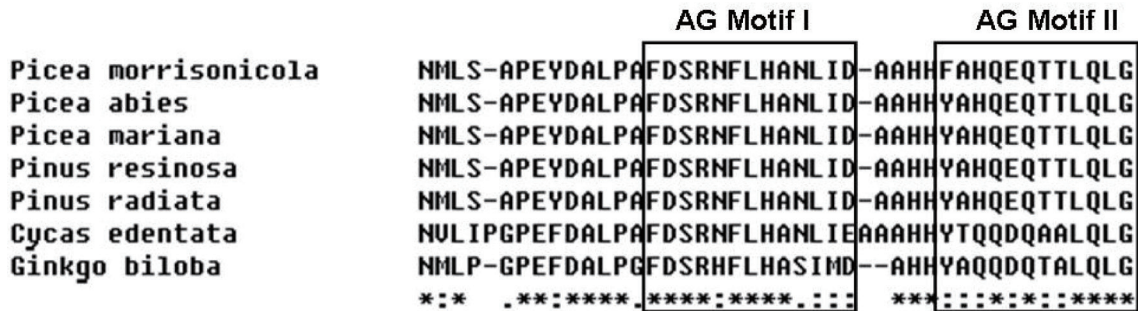


圖3 將PMHMADS和其他裸子植物胺基酸序列並接，發現具有AG Motif I & II。其中 \* 指出胺基酸相同的位置

另外，為了探究PMHMADS基因序列的特性，我們透過並接(alignment)軟體(CLUSTALW1.81)，挑選裸子植物和PMHMADS胺基酸序列相近的基因(Accession Number: CAA55867, AAD01266, AAD09342, AAM76208, AAM74074, CAB44449)作並接，發現C與D功能型基因的共同演化特徵：即高保守性序列區塊：AG Motif I及AG Motif II (圖3)，綜合以上結果，我們將臺灣雲杉PMHMADS基因歸類於C功能型基因。

在臺灣肖楠中，選殖出CFMADS1基因，同樣透過親緣關係圖的歸納及序列分析，推測為C功能型的基因。更透過農桿菌(*Agrobacterium tumefaciens*)轉殖系統，將此基因轉殖進入阿拉伯芥，可以幫助推測此基因的功能性。結果發現CFMADS1基因之正義股(sense)轉植株特徵具有：莖短小而且較細、葉片開展直徑小、葉片向內或向外皺摺捲曲及花器發育異常，這些性狀都和DAL2基因(GenBank Accession Number: X79280)轉殖於阿拉伯芥中的性狀相似，因為DAL2和CFMADS1有極高的序列相似度，加上前人研究指出，DAL2基因和顯花植物中控制生殖器官發育的基因具有相似表現，故此推論CFMADS1基因對於生

殖器官的調控有極大的關聯性。

未來針對林木MADS-box基因的研究將分為三大方向：開花時間及花器發育、加速開花(acceleration of flowering)及阻礙開花(prevention of flowering)，並透過基因序列配合生物資訊學來建構林木物種間的親緣關係。長遠來看開花基因有助於縮短林木輪伐期、促進林木開花結實、了解林木開花生理及控制轉殖林木基因外流等，對於林業科學研究有極大的幫助。⊗