

2017 年臺灣國際科學展覽會 優勝作品專輯

作品編號 060018

參展科別 植物學

作品名稱 阿拉伯芥茉莉酸結合酶 FIN219 參與生物韻律變化之研究

得獎獎項 大會獎：四等獎

就讀學校 臺北市立第一女子高級中學

指導教師 謝旭亮、陳怡旻

作者姓名 楊佩蓁

關鍵字 FIN219、生物韻律、茉莉酸

作者簡介



我是楊佩蓁，目前就讀於北一女中三年級，很開心學校的課程能夠讓我們接觸科學研究的領域。在做專題研究的過程中，我學習到了很多實驗的方法、原理和精神，雖然有時候必須花費大量的時間投入於實驗，但結果的甜美也總是讓我覺得一切的付出都是值得的。我也要謝謝教授、老師以及學長姊的幫忙，讓初入研究領域的我能夠受益良多，並且順利完成自己的專題研究，不僅讓我開闊了自己的眼界，也留下了許多開心的回憶。

摘要

生物韻律與植物許多生長過程息息相關，其機制是生物學中重要的研究主題。FIN219 能夠活化茉莉酸，進而引發植物對於逆境的防禦能力，也參與了藍光的訊息傳遞鏈，與植物的開花有關聯，其表現在長日照環境下也具有以 24 小時為週期的變化，因此很有可能參與了生物韻律的調控。本研究以 GUS 染色、西方墨點法與 RT-PCR 進行實驗，發現阿拉伯芥的 *FIN219* 基因與其蛋白質進入照光期後表現量會增加，進入黑暗期則會減少，此生物韻律也會受到外加 JA 與 JA 合成抑制劑 DIECA 的影響。再以 RT-PCR 比較生物韻律相關基因在野生種與剔除 *FIN219* 基因的突變株中的表現，也發現 *FIN219* 基因沒有表現時，相關基因 *TIC*、*TOC1*、*CAB2*、*CAB3*、*RBCS-1A* 和 *JAZ1* 表現的生物韻律會減弱。因此可知 FIN219 不但能夠增進植物的防禦能力，其引發的訊息傳遞也參與了生物韻律的調控機制。

Abstract

Circadian rhythm correlates closely with many growth processes in plants, and its mechanism underlying their integration is an important issue in biology. FIN219 can activate jasmonic acid, and then triggers the defense mechanisms when plants encounter various stresses; it also takes part in cryptochrome-mediated blue light signaling that regulates hypocotyl elongation and flowering. Since FIN219 is abundant in the dark and less in the light, which suggests that its expression level may be regulated by circadian rhythm. To further understand possible involvement of FIN219 in regulating circadian patterns of Arabidopsis seedling development, I used GUS staining, Western blotting and RT-PCR methods to understand FIN219 functions in this aspect. I found that FIN219 gene and its protein in Arabidopsis will increase its performance when it is in the light, and can contrastively reduce the performance in the dark; this circadian rhythm can also be influenced by adding JA or JA biosynthesis inhibitor DIECA. Further, the expression of circadian rhythm-responsive genes such as TIC, TOC1, CAB2, CAB3, RBCS-1A and JAZ1 was more inconspicuous in *fin219-2* knocked-out mutant than in wild-type Columbia. Taken together, our data revealed that FIN219 could not only enhance the defense capacity in plants, it but also is involved in the regulation of circadian rhythm.

壹、前言

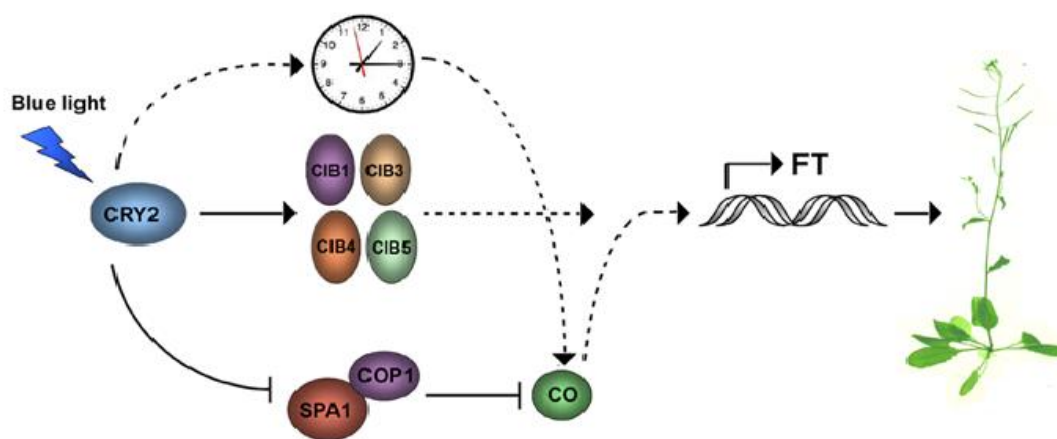
一、研究動機

野生種阿拉伯芥 *Columbia* (Col) 由黑暗轉移入光中後，FAR-RED INSENSITIVE219 (FIN219) 蛋白質的表現會明顯減少，顯示 FIN219 在黑暗中的表現量會明顯較光中多 (Wang, et al, 2011)；其所活化的茉莉酸 (Jasmonic acid, JA) 的表現量也具有中午時會提升的情形 (Seo and Mas, 2015)。而 FIN219 蛋白質會受到遠紅光誘導表現增加，在藍光下也有對藍光高度敏感的外表型，參與了藍光的訊息傳遞鏈，與植物的開花也有關聯 (曾, 2004)。因此，FIN219 的表現不但影響植物的防禦功能，也可能參與了植物中生物韻律調控。

生物韻律調控著植物許多以大約 24 小時為週期產生變動的生理程序，能夠控制植物許多生長過程，包括花香的散發、葉的運動、氣孔開關、種子萌發及下胚軸伸長，這些大約以 24 小時為週期、不直接因任何環境因子控制的循環對於植物生長極為重要，然而，植物調控生物韻律的機制至今仍未釐清。

許多基因皆受到生物韻律的調控，例如：結合葉綠素的 chlorophyll a/b-binding protein gene 2 (*CAB2*) 與參與植物光合作用的 ribulose biphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) small subunit gene (*RBCS-1A*) 的表現皆擁有明顯的生物韻律 (Millar and Kay, 1991)。*TIME FOR COFFEE* (*TIC*) 基因與 *TIMING OF CAB2 EXPRESSION1* (*TOC1*) 基因作用均被認為與植物的生物韻律調控中心有密切關係 (Ding, et al, 2007) (Kolmos, et al, 2008)。

除了 *TIC* 基因與 *TOC1* 基因之外，隱花色素 Cryptochrome2 (CRY2) 也能夠接受藍光調控植物生物韻律。如圖一，CRY2 會與 CIB 轉錄因子相互作用並直接刺激開花相關基因 *Flower locus T (FT)* 的轉錄；也會與 COP1 相互作用產生抑制 *FT* 轉錄的 COP1 依賴性降解蛋白 CO；另外，CRY2 也被猜測能夠透過調控植物的生物韻律影響 *FT* (Yu, et al, 2010)。

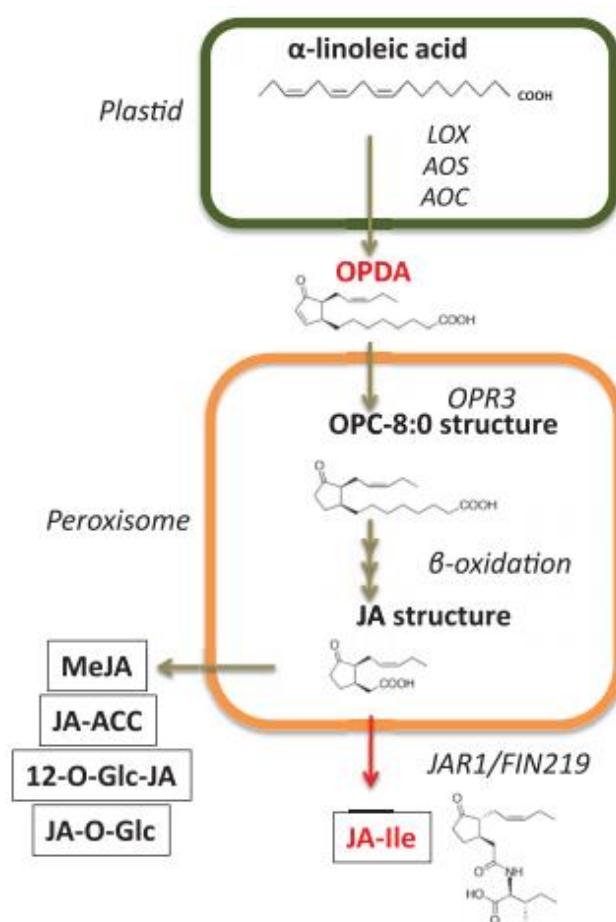


圖一、CRY2 接收藍光調控開花相關基因 *FT* 的途徑，虛線為尚未確定的可能路徑 (Yu, et al, 2010)。

CRY2 與 FIN219 蛋白質以酵母菌雙雜交法於酵母體內分析蛋白質間相互作用的基因系統中，顯示二者有直接的交互作用；以洋蔥表皮短暫表現法觀察基因瞬時表達位置時，顯示了 CRY2 與 FIN219 蛋白質在細胞內表現位置的重疊；藉由共免疫沉澱以抗體和抗原之間的專一性作用進行蛋白質相互作用分析，也證實了在光照中植物體內 FIN219 與 CRY2 的直接交互作用 (張, 2005)。綜合上述研究可知，FIN219 與 CRY2 亦極有可能透過直接的交互作用，參與在各自所屬的生物韻律調控與防禦反應訊息傳遞路徑當中，共同調控植物的生理反應。

FIN219 的胺基酸序列，在其 N 端及 C 端各含一個可與其他蛋白質發生交互作用的 coiled-coil domain 區域 (Lupas, 1996)。大量表現 FIN219 的轉殖株無論在黑暗或遠紅光照射下，都可以表現出較短的下胚軸 (曾, 2004)。FIN219 也是一種 JA 結合酵素 (JA-conjugating enzyme)，如圖二所示，當葉綠體的 α -linoleic acid 經由 LOX (脂肪氧合酶)、AOS (丙二烯氧化氫合酶) 和 AOC (丙二烯氧化物環化酶) 合成中間產物 12-oxophytodienoic acid (OPDA)，並被輸送到過氧化小體，經 β 氧化作用後，FIN219 會使

JA 接上異白胺酸 (Isoleucine) 的酵素活性，產生 JA-isoleucine (JA-Ile)，啟動 JA 訊息下游基因的表現 (Hsieh and Haruko, 2014) (賴，2013)。JA 是一種植物用來抵抗外在傷害或疾病的植物賀爾蒙，亦可影響植物的下胚軸及根部的生長、果實成熟、老化現象，對植物的生長與發育有密切的關係 (徐，2005)。JA 訊息傳遞也受到 MYC2 與 jasmonate-zim-domain protein1 (JAZ1) 等蛋白質的影響，MYC2 是能夠調控 JA 表現的重要轉錄因子，而 JAZ1 則能直接控制 MYC2 的轉錄，是啟動 JA 的負調控因子 (goo.gl/6U37qH)。



圖二、JA 活化途徑。MeJA、JA - ACC、12-O-GLC-JA 和 JA-O-aGlc 是具防禦功能的活性物質 (Hsieh, et al, 2014)。

本研究探討 FIN219 與植物防禦物質 JA 的訊息傳遞是否與生物韻律相關，及其對生物韻律產生什麼樣的影響。藉由釐清 FIN219 的表現與生物韻律間的影響，以進一步

釐清生物韻律調控的機制與其和植物防禦分子調控之間的關連。

二、研究目的

- (一)、觀察 *FIN219* 基因與其蛋白質表現的生物韻律模式及其受 JA 的影響情形
- (二)、探討 *FIN219* 基因與植物防禦反應之間的關係
- (三)、探討 *FIN219* 基因對生物韻律相關基因表現的影響

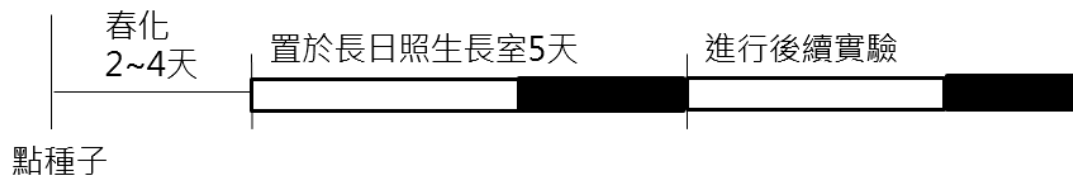
貳、研究過程或方法

一、實驗材料：

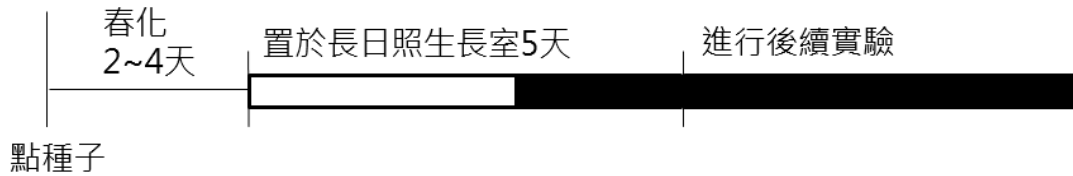
- (一) 野生種阿拉伯芥 *Columbia*：每盤種植約 $4 \mu\text{l}$ 種子以觀察其表現 *FIN219* 蛋白質的變化。
- (二) 阿拉伯芥 *P219::GUS*：將 *FIN219* 基因的啟動子 (promoter) 後加上 *GUS* (β -glucuronidase) 作為報導基因的阿拉伯芥，當啟動子啟動後，便會驅動報導基因，經由供應 *GUS* 的基質而加以染色後，*FIN219* 表現的位置就會呈現藍色，每盤約 40 顆植株，以此觀察 *FIN219* 基因的表現強弱。
- (三) 阿拉伯芥 *fin219* 突變株：每盤種植約 $4 \mu\text{l}$ 種子剔除 *FIN219* 基因的突變株，以觀察沒有 *FIN219* 基因表現對植物的影響。
- (四) 三齡小菜蛾 *Plutella xylostella*：以阿拉伯芥餵食小菜蛾，觀察小菜蛾的進食量與體重變化，若小菜蛾進食量越大，體重增加就越多，代表著植物防禦機制越弱。

二、光照處理：

阿拉伯芥屬於長日照植物 (<http://baike.baidu.com/view/48354.htm>)，因此將種子低溫春化 2 到 4 天後，移入 16 小時白光 8 小時黑暗的長日照生長室。將阿拉伯芥在長日照光週期處理後，分為正常光週期組 (圖三) 與轉移至持續黑暗組 (圖四)，以觀察外在環境的改變對 *FIN219* 生物韻律的影響。



圖三、阿拉伯芥正常光週期組處理時間軸

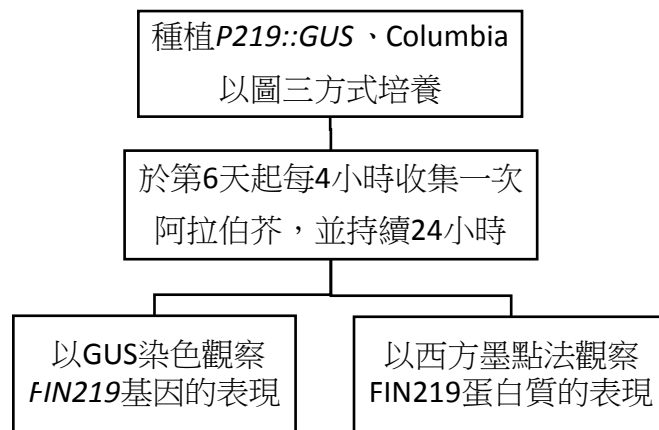


圖四、阿拉伯芥轉移至持續黑暗組處理時間軸

三、實驗流程

(一) 觀察阿拉伯芥表現 *FIN219* 基因與蛋白質於 24 小時內的變化 (圖五)

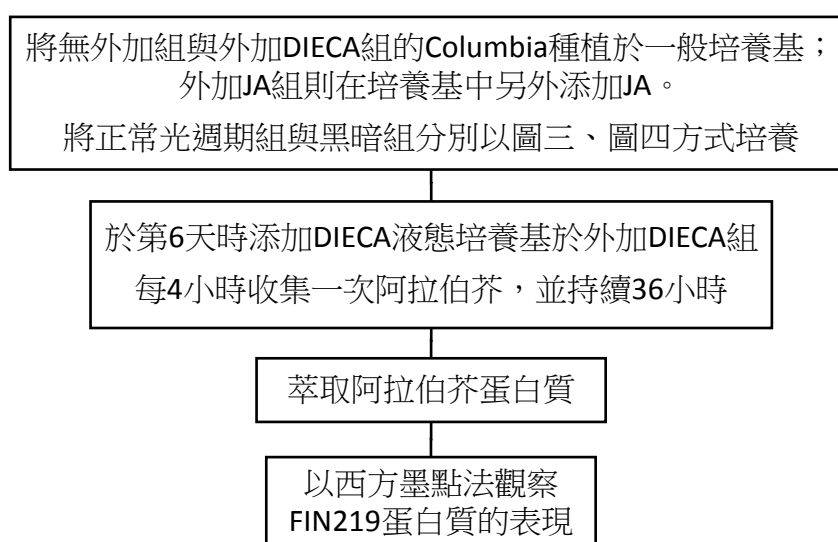
以正常光週期組方式 (圖三) 處理 *P219::GUS* 與 Columbia 5 天後, 於第 6 天起每 4 小時收集一次阿拉伯芥, 收集 24 小時。將 *P219::GUS* 染色, 並觀察其表現位置和隨時間的變化; 另外也萃取 Columbia 植株的蛋白質, 以西方墨點法觀察 *FIN219* 蛋白質的表現。



圖五、觀察阿拉伯芥表現 *FIN219* 基因與蛋白質實驗流程表

(二)、探討 JA 訊息傳遞對阿拉伯芥表現 *FIN219* 的生物韻律的影響 (圖六)

若是 *FIN219* 參與生物韻律，則進入無光週期韻律的黑暗環境中後其基因應仍表現原有的生物韻律，因此本實驗將 *Columbia* 分為以正常光週期組 (圖三) 與黑暗組 (圖四)，並以西方墨點法比較仍在一般光照環境下與進入持續黑暗後阿拉伯芥表現 *FIN219* 的差異，以得知 *FIN219* 是否有著約 24 小時固定變化的生物韻律。另外以外加 JA 組與外加 JA 合成抑制劑 (DIECA) 組觀察 JA 訊息傳遞的對阿拉伯芥表現 *FIN219* 的影響，JA 組將 *Columbia* 種植於外加 50 μ mol JA 的培養基中；DIECA 組則是於第 6 天將 8ml DIECA 液態培養基加入 *Columbia* 的培養皿中，兩組又各自分為正常光週期組 (圖三) 與黑暗組 (圖四)。



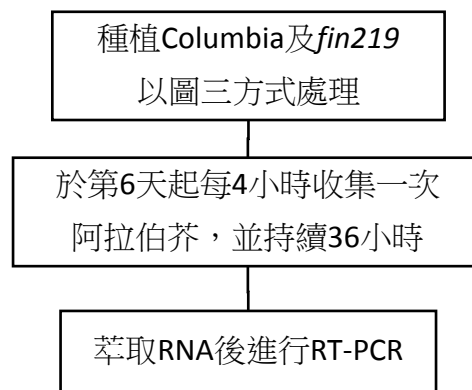
圖六、觀察 JA 傳遞對阿拉伯芥表現 *FIN219* 影響的實驗流程表

三、探討 *FIN219* 基因對植物防禦反應之影響

分別種植 *Columbia* 與 *fin219*，並將 *Columbia* 分為正常光週期組 (圖三) 與黑暗組 (圖四)，光週期組為阿拉伯芥在正常長日照情況下表現 *FIN219* 的生物韻律，黑暗組則為其減弱表現 *FIN219* 生物韻律，觀察小菜蛾的進食量與體重變化。為了有較大的葉片以餵食小菜蛾，因此將原本培養阿拉伯芥的 6 天時間延長為 26 天，又因為一隻小菜蛾的重量太輕無法用微量天平準確測量，因此將小菜蛾以 7 隻為單位於餵食前與餵食 2 天後秤重。

四、探討 *FIN219* 對生物韻律相關基因的影響（圖七）

將 Columbia 與 *fin219*，以正常光週期組（圖三）處理，於第 6 天後每 4 小時收集一次阿拉伯芥，萃取 RNA 後，反轉錄為 cDNA，再進行 RT-PCR 觀察阿拉伯芥表現生物韻律相關基因 *TIC*、*TOC1* 及受生物韻律調控基因 *CAB2*、*CAB3* 與 *RBCS-1A* 和能直接阻礙 JA 表現的負調控因子 *JAZ1* 的生物韻律是否受 *FIN219* 基因影響。



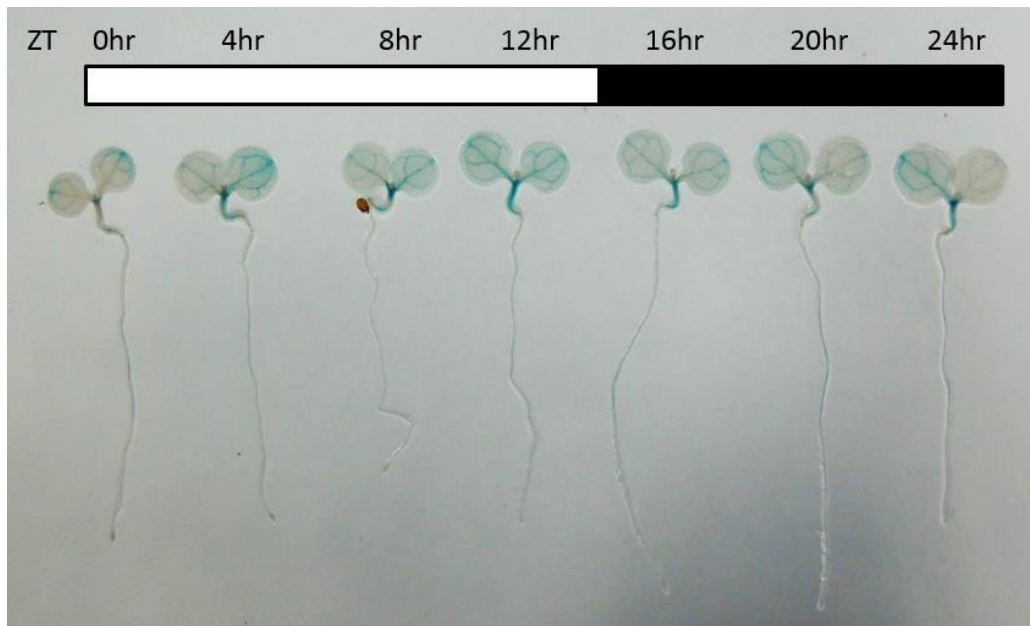
圖七、*FIN219* 對生物韻律相關基因影響的實驗流程表

參、研究結果與討論

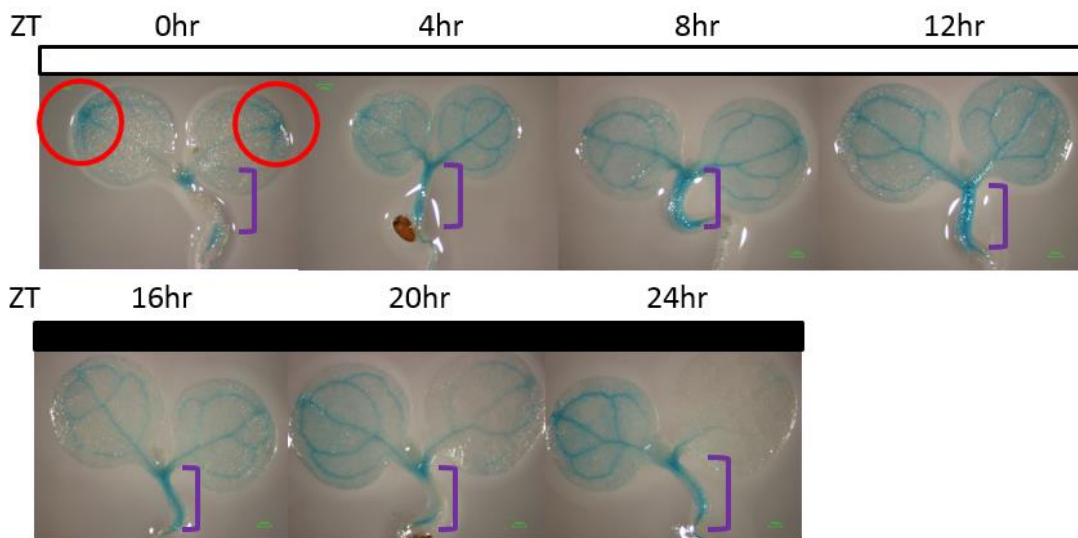
一、以 GUS 染色結果檢測，發現阿拉伯芥進入光中會增加 *FIN219* 表現量

由 *P219::GUS* 阿拉伯芥幼苗的染色結果（圖八）可見 *FIN219* 基因大致表現於出水孔、葉脈及莖頂，根部較少，另外，有不少阿拉伯芥幼苗染色結果呈現只有一瓣葉子有藍色，這也是個有趣的發現。將阿拉伯芥放大後亦發現 *FIN219* 在葉脈及下胚軸的 GUS 染色顏色較深（圖九）。圖八與圖九為不同時間拍攝，因此同一時間點所選的植株並不相同。*FIN219* 是負責活化 JA 的關鍵酵素，而 JA 是由維管束運送的植物賀爾蒙，會影響維管束的分化並抑制植物下胚軸生長（goo.gl/HBfJWK），因此 *FIN219* 多表現於維管束周圍。ZT 為授時因子 Zeitgeber 的縮寫，代表用來影響生物韻律的外在刺激

（https://en.wikipedia.org/wiki/Circadian_rhythm），由染色結果可推得 *FIN219* 蛋白質於 0 小時進入光照後的表現量漸增，而 16 小時進入黑暗後則漸減。

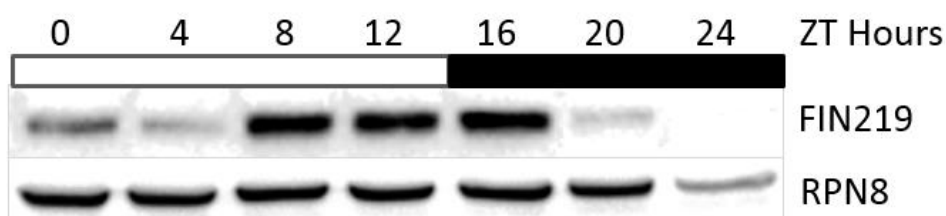


圖八、每個時間點收集了大約 40 株阿拉伯芥幼苗，此為 40 株內具代表性(與大部分阿拉伯芥 GUS 染色相同)的植株。



圖九、GUS 染色後葉片及下胚軸的放大圖。紅色標示部分為出水孔；紫色標示部分為下胚軸。出水孔與下胚軸部分 GUS 染色較深。

結果顯示（圖十），FIN219 的表現量在進入白光時，表現量會增加，而進入黑暗後會減少，這與初步 GUS 染色的觀察是相吻合的，但更進一步發現進入光照時，FIN219 於 0 到 4 小時時會先減少，4 小時後表現量則增加。RPN8 是阿拉伯芥中較穩定的蛋白質，作為 internal control。

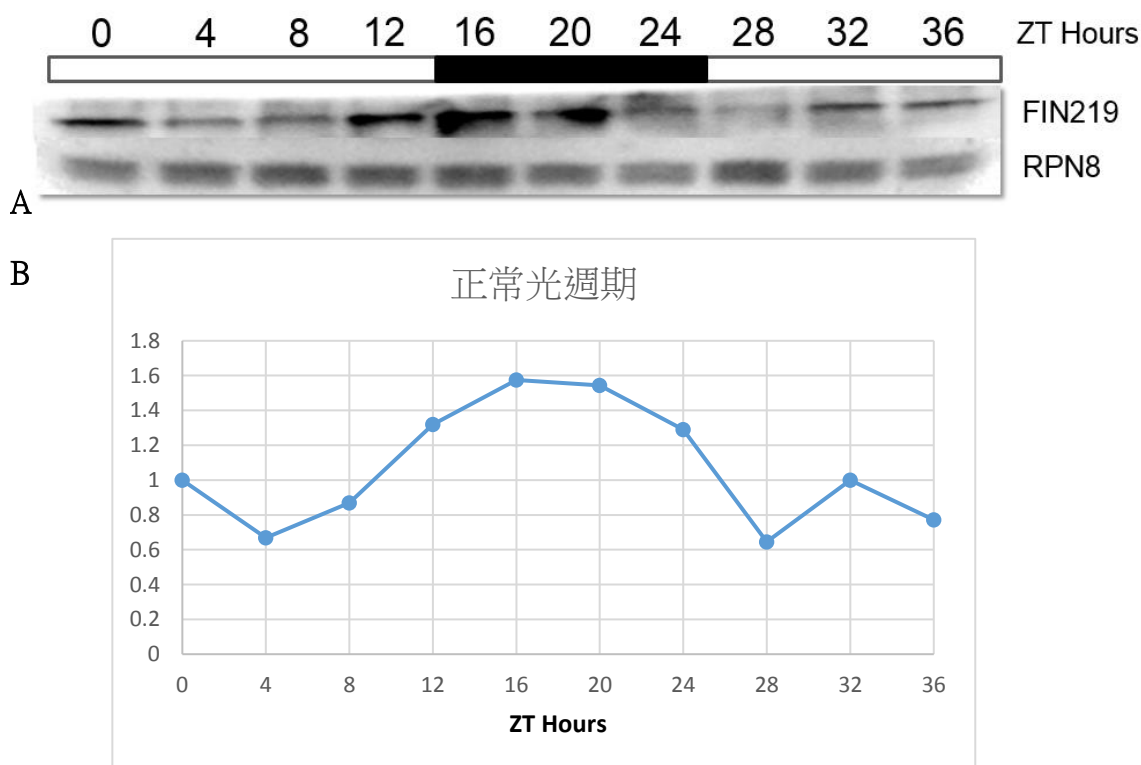


圖十、長日照處理 5 天後，至第 6 天起每 4 小時收集的阿拉伯芥以西方墨點法檢測 FIN219 的表現量。

二、以西方墨點法檢測，發現 FIN219 的表現具有生物韻律的現象

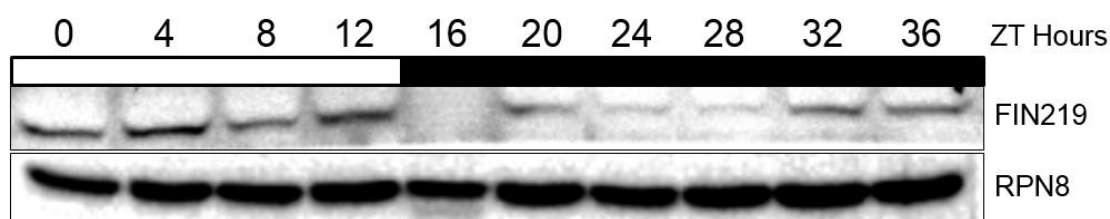
以黑暗處理取代光週期的阿拉伯芥，其 FIN219 的表現量依然有著在原本光照時間增加，後來減少的趨勢，表示 FIN219 確實與生物韻律相關，但進入黑暗後會律動變得較不明顯（圖十一、圖十二）。FIN219 所活化的 JA 表現量具有中午時會提升的情形

（Seo and Mas, 2015），因此阿拉伯芥進入光照中增加 FIN219 的表現量，能夠活化更多 JA，使 JA 的表現變多。

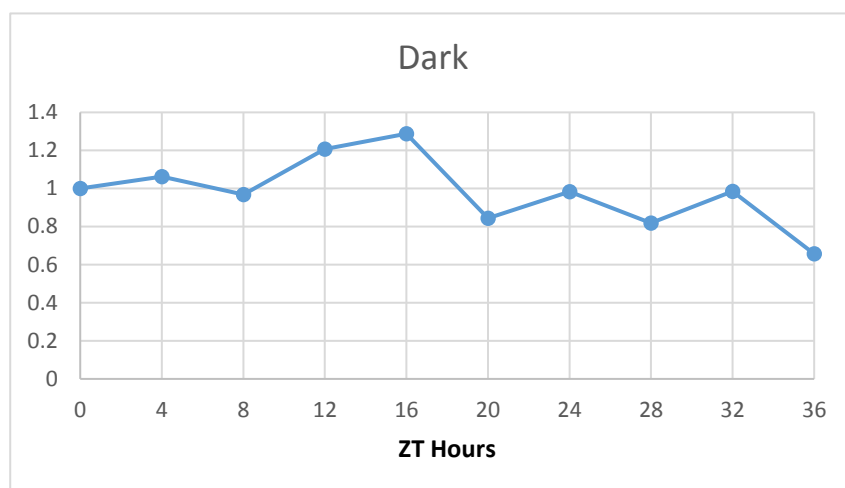


圖十一、A 部分為以西方墨點法檢測阿拉伯芥正常光週期組 FIN219 表現的結果。B 部分為將 A 部分 FIN219 表現量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 的表現量為 1。

A



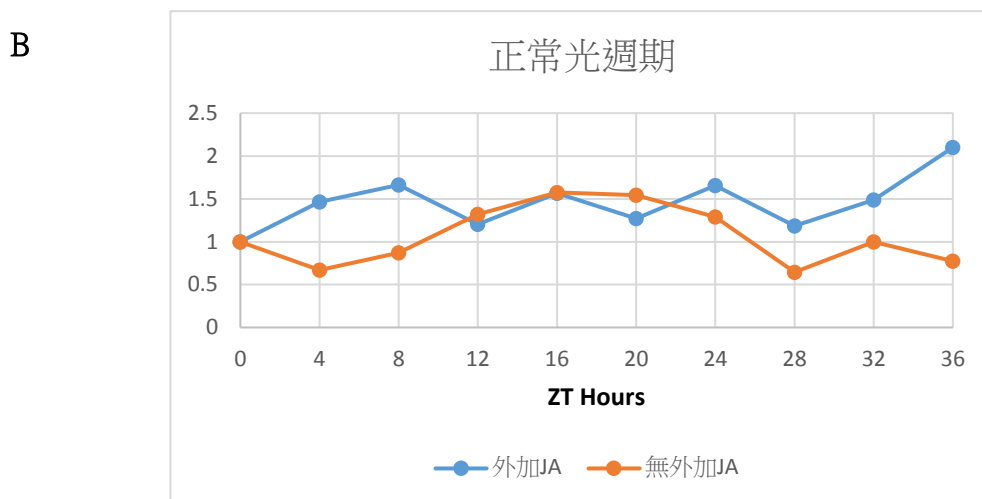
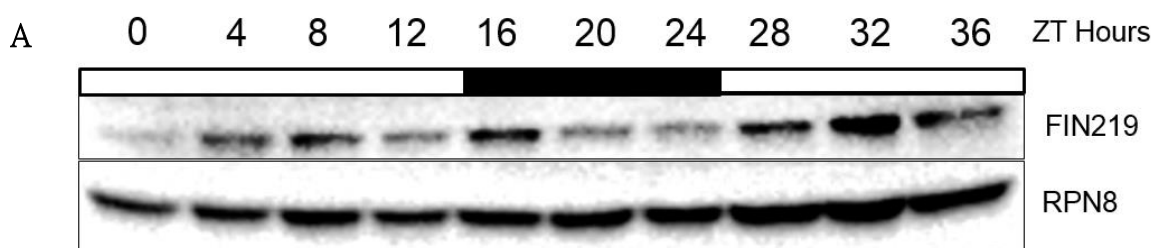
B



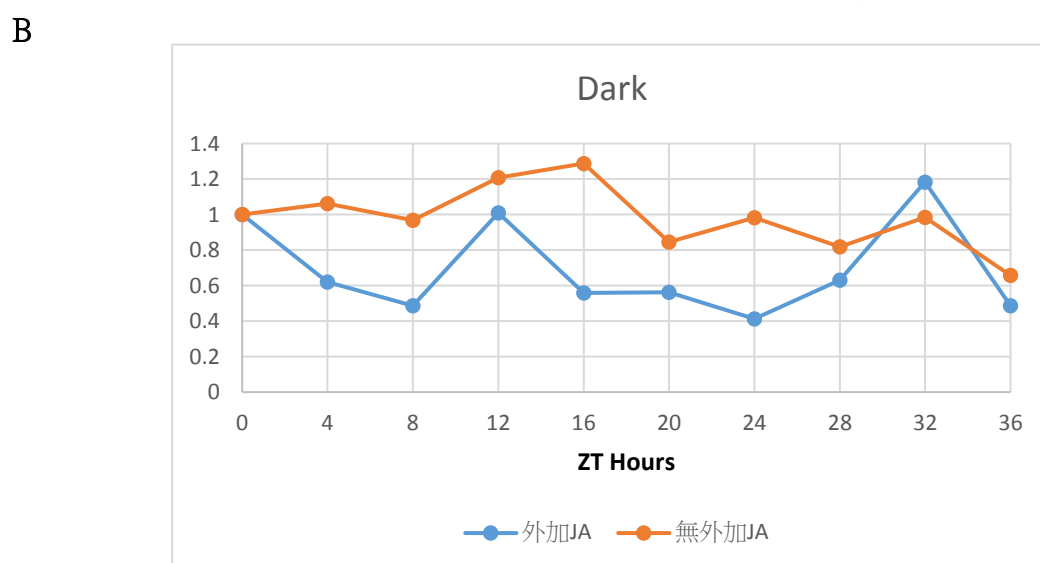
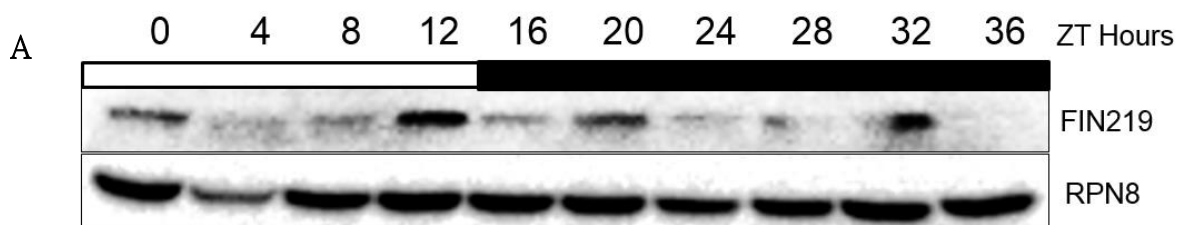
圖十二、A 部分為以西方墨點法檢測阿拉伯芥移入黑暗組 FIN219 表現的結果。B 部分為將 FIN219 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 的表現量為 1。

三、以西方墨點法檢測，發現外加 JA 會改變 FIN219 表現的生物韻律

在正常光週期下，外加 JA 的阿拉伯芥中 FIN219 的表現依然會有進入光中上升的生物韻律，但相對於 0 小時進入光中時，外加 JA 組的 FIN219 蛋白質表現量增加的幅度較無外加 JA 組更大，表現量增也由無外加組的 4 小時後才增加提早為進入光照的 0 小時後便增加（圖十三）；移入持續黑暗後，外加 JA 組的 FIN219 表現量減少的幅度也較無外加組更快速（圖十四）。JA 的活化過程也啟動了許多具防禦功能的活性物質（Hsieh, et al, 2014），這些物質能夠傳遞並促使更多的 JA 被活化，因此 JA 的增加能夠使阿拉伯芥表現出更多 FIN219，其生物韻律變化幅度也更大。



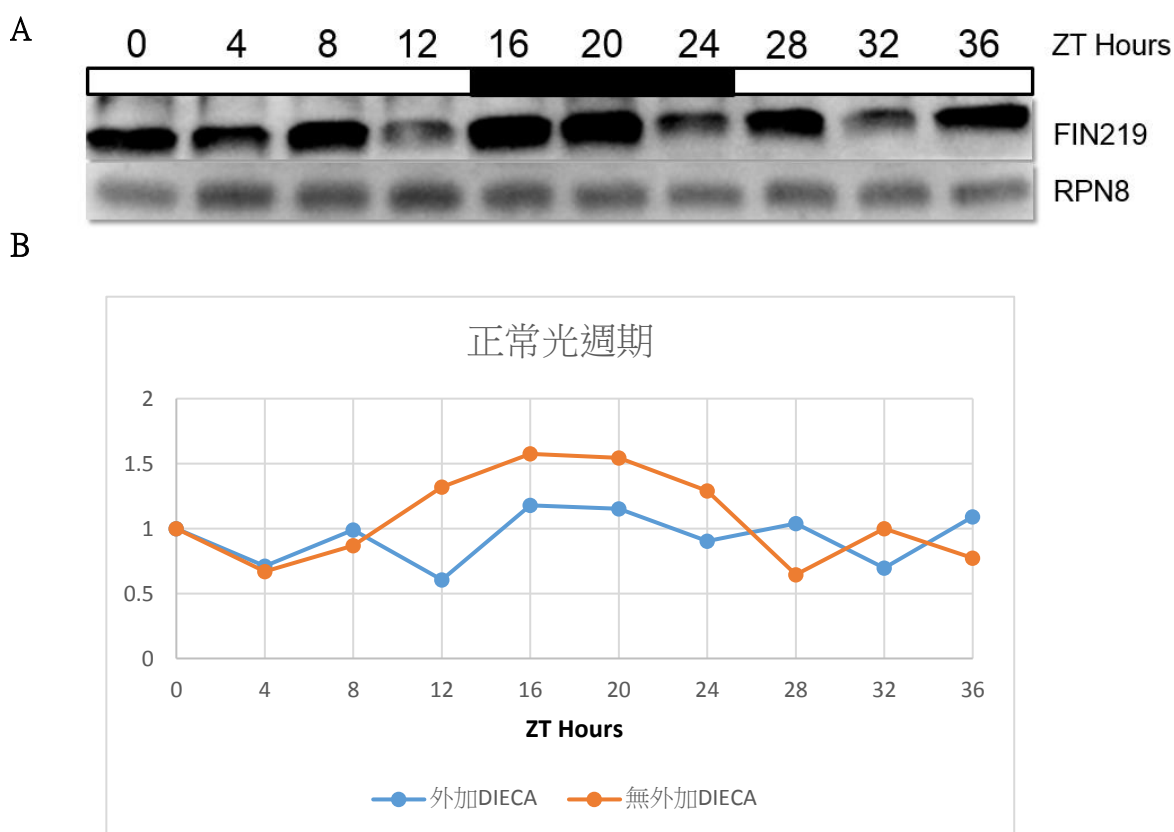
圖十三、A 部分為以西方墨點法檢測外加 JA 培養時正常光週期的阿拉伯芥其 FIN219 表現的結果。B 部分為將 FIN219 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱坐標為 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 表現量為 1。



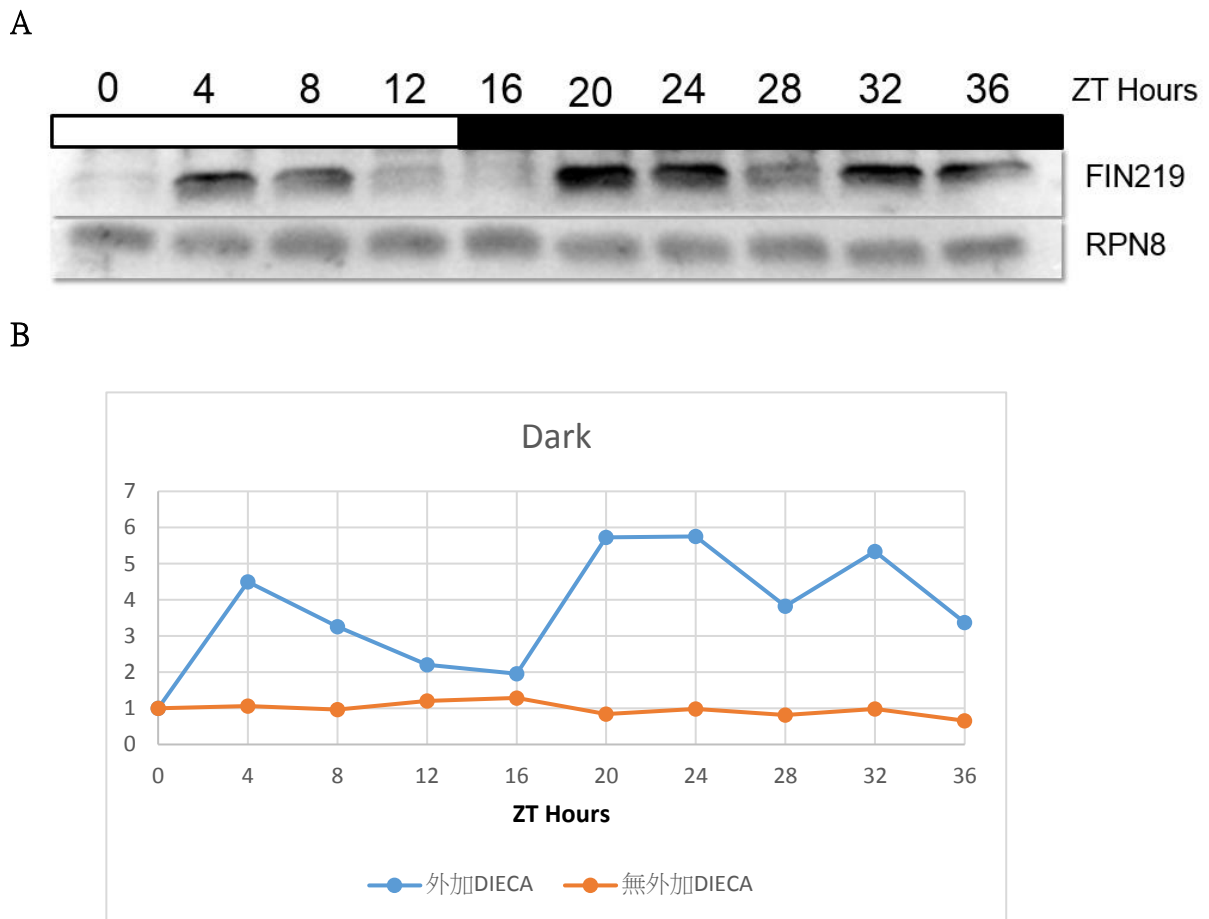
圖十四、A 部分為以西方墨點法檢測外加 JA 培養時黑暗組的阿拉伯芥其 FIN219 表現的結果。B 部分為將 FIN219 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 表現量為 1。

四、以西方墨點法檢測，發現外加 JA 合成抑制劑 DIECA 影響 FIN219 表現的生物韻律

在正常光週期下，外加了 DIECA 後，阿拉伯芥 FIN219 的表現進入光中無明顯增加，進入黑暗時也沒有明顯減少，生物韻律現象消失（圖十五）；黑暗組的 FIN219 於 0 小時後大量增加，而到了 12、16 小時減少，20 小時後又大量增加（圖十六）。推測 JA 的減少促使阿拉伯芥表現更多的 FIN219 以活化所需的 JA，同樣的，當 JA 產量已足夠，阿拉伯芥表現的 FIN219 便會減少，此時 FIN219 的表現受到 JA 活化量的影響較大，因此便失去原有的生物韻律。



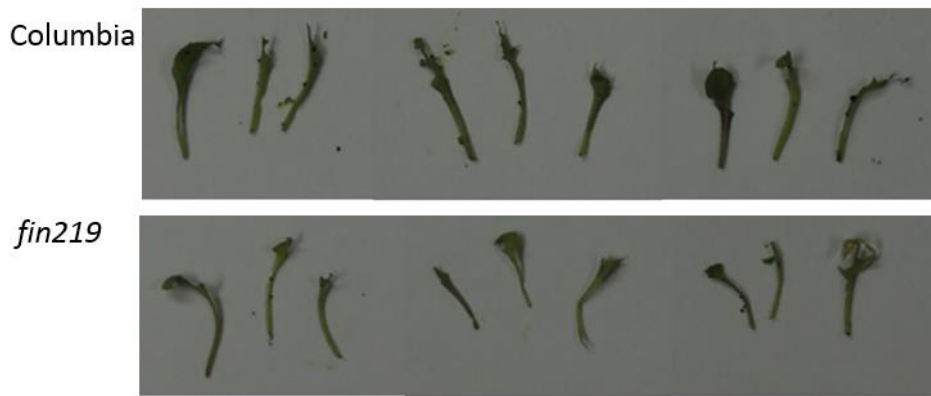
圖十五、A 部分為以西方墨點法檢測外加 DIECA 的阿拉伯芥正常光週期組其 FIN219 表現的結果。B 部分為將 FIN219 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 表現量為 1。



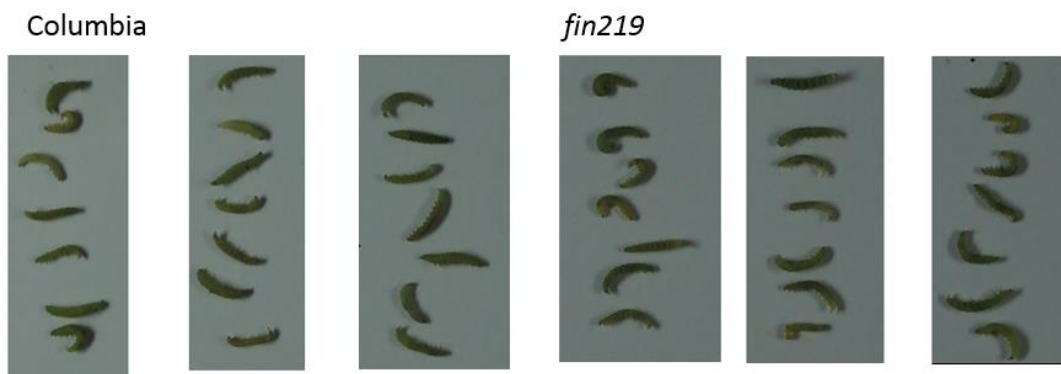
圖十六、A 部分為以西方墨點法檢測外加 DIECA 的阿拉伯芥移入黑暗組 FIN219 其表現的結果圖。B 部分為將 FIN219 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱坐標為 FIN219 相對表現量，以 0 小時 FIN219 表現量為 1。

五、以餵食小菜蛾觀察，發現 *FIN219* 能夠增強植物防禦

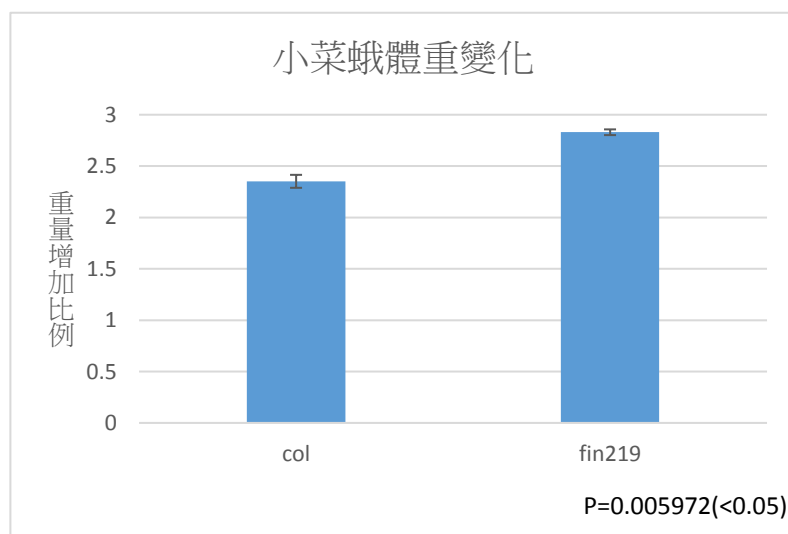
以野生型阿拉伯芥 *Columbia* 與剔除 *FIN219* 基因的突變株 *fin219*，在正常光週期下分別餵食三齡小菜蛾；可發現 *fin219* 組的葉子被啃食的範圍較大（圖十七），但小菜蛾的外觀並沒有明顯差異（圖十八），以 Student' s t-test 分析顯示餵食 *fin219* 的小菜蛾體重增加比例較餵食 *Columbia* 的小菜蛾多（圖十九）。推知 *fin219* 的防禦能力較 *Columbia* 差，因此小菜蛾進食較多、體重增加比例較大。阿拉伯芥失去 *FIN219* 的表現便沒辦法順利活化 JA，也就無法啟動阿拉伯芥的防禦反應，致使小菜蛾進食較多，可見 *FIN219* 在阿拉伯芥的防禦反應中扮演了重要的角色。



圖十七、小菜蛾進食 2 天後，阿拉伯芥葉子的外觀，此為具代表性(與大部分被啃咬的葉片相同)的葉子。上方為 Columbia 組，下方為 *fin219* 組，此為三重複，每一行為一組。



圖十八、小菜蛾進 2 天後，小菜蛾的外觀。左三張為進食 Columbia 組，右三張為進食 *fin219* 組，此為三重複，每一行為一組。



圖十九、將 Columbia 組與 *fin219* 組的小菜蛾於餵食前和餵食後 2 天的體重增加量除以餵

食前體重的量化結果。

六、以餵食小菜蛾觀察，發現 FIN219 於持續黑暗環境中表現量增多

將 Columbia 分為光週期組與黑暗組，光週期組為 FIN219 在正常情況下的生物韻律，黑暗組為生物韻律減弱之 FIN219，藉以觀察 FIN219 生物韻律對小菜蛾進食的影響。正常光週期組的葉子被啃食的範圍較大（圖二十），但小菜蛾的外觀並沒有明顯差異（圖二十一），以 Student' s t-test 分析，*FIN219* 基因進入黑暗而生物韻律減弱後，小菜蛾體重變化量雖比正常光週期組少，但是不具有顯著性差異（圖二十二）。阿拉伯芥 Columbia 經過日夜週期馴化後，具有生物韻律現象，但小菜蛾並未經過同樣的日夜週期馴化，因此造成阿拉伯芥的防衛系統降低，有利於小菜蛾進食；而進入黑暗組的材料，可能與小菜蛾的進食行為較一致，造成部份的防衛系統，較不利於小菜蛾的進食，故其增重較少，但與光照組沒有顯著性差異。

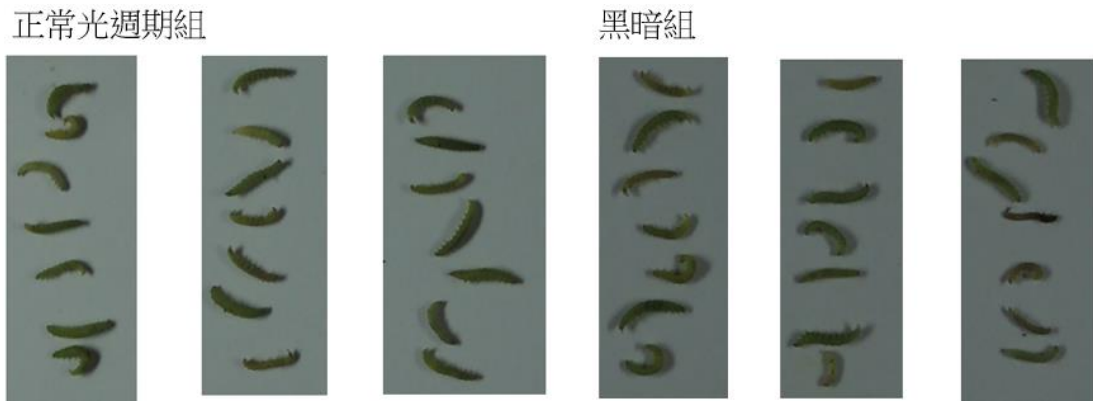
正常光週期組



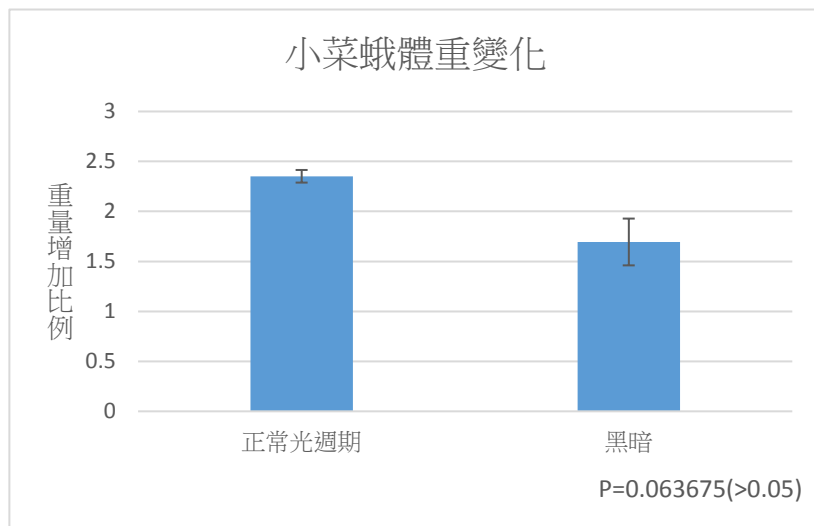
黑暗組



圖二十、小菜蛾進食 Columbia 2 天後，阿拉伯芥葉子外觀，此為具代表性(與大部分被啃咬的葉片相同)的葉子。上方為正常光週期組，下方為黑暗組，此為三重複，每一行為一組。



圖二十一、小菜蛾進食 Columbia 2 天後，小菜蛾的外觀。左三張為正常光週期組，右三張為黑暗組，此為三重複，每一行為一組。

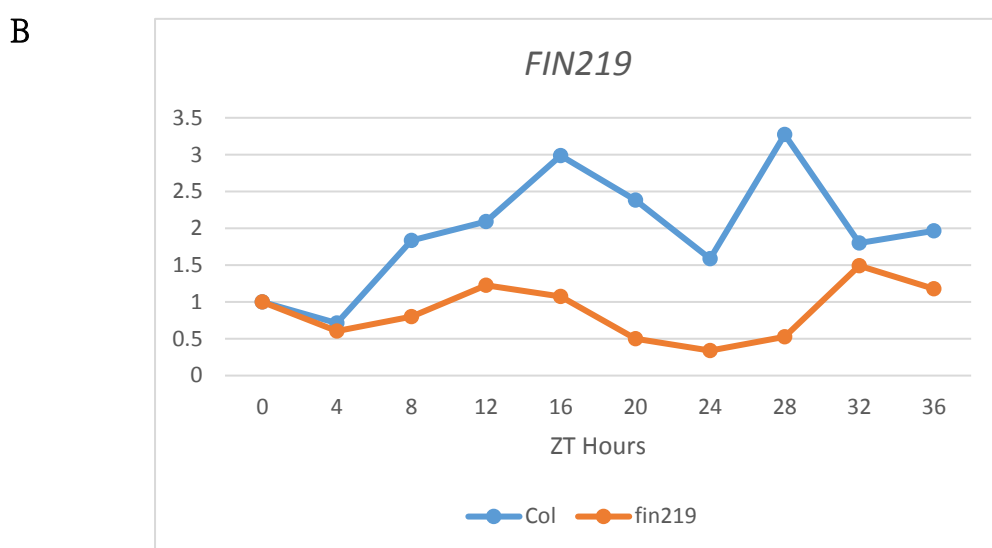
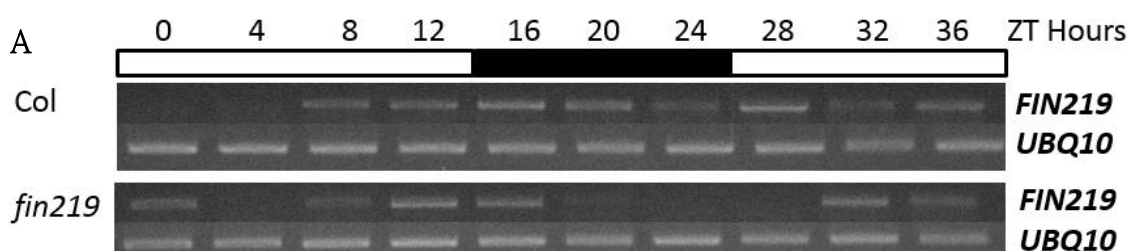


圖二十二、將正常光週期組與黑暗組的小菜蛾於餵食前和餵食後 2 天的體重增加量除以餵食前體重的量化結果。

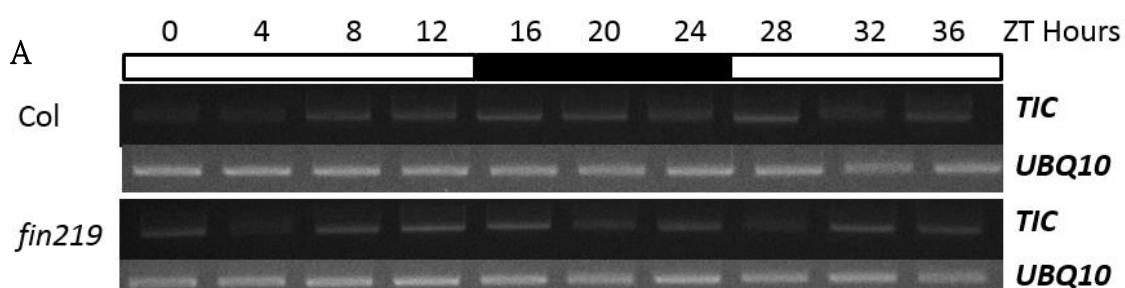
七、以 RT-PCR 檢測，發現 *FIN219* 基因會影響植物生物韻律相關基因表現的生物韻律

以 PCR 的方式觀察阿拉伯芥表現 *FIN219* 與否對生物韻律相關基因 *TIC* (圖二十四)、*TOC1* (圖二十五) 及受生物韻律調控基因 *CAB2* (圖二十六)、*RBCS-1A* (圖二十七) 和茉莉酸相關基因 *JAZ1* (圖二十八) 表現的影響。阿拉伯芥 *FIN219* 基因的表現具有進入光照後 0 到 4 小時減少，4 小時後增加，進入黑暗又減少的情形，與其產生的蛋白質具有相同的生物韻律變化 (圖二十三)。阿拉伯芥中 *TIC* 與 *TOC1* 也是 JA 訊息傳遞的負調控因子，能夠降低 JA 含量 (Shin, et al, 2012)，*TIC*、*TOC* 與 *CAB2*、*RBCS-1A* 及 *JAZ1* 的表現均有進入光照後表現量增加，進入黑暗後減少的生物韻律現象，且此生物韻

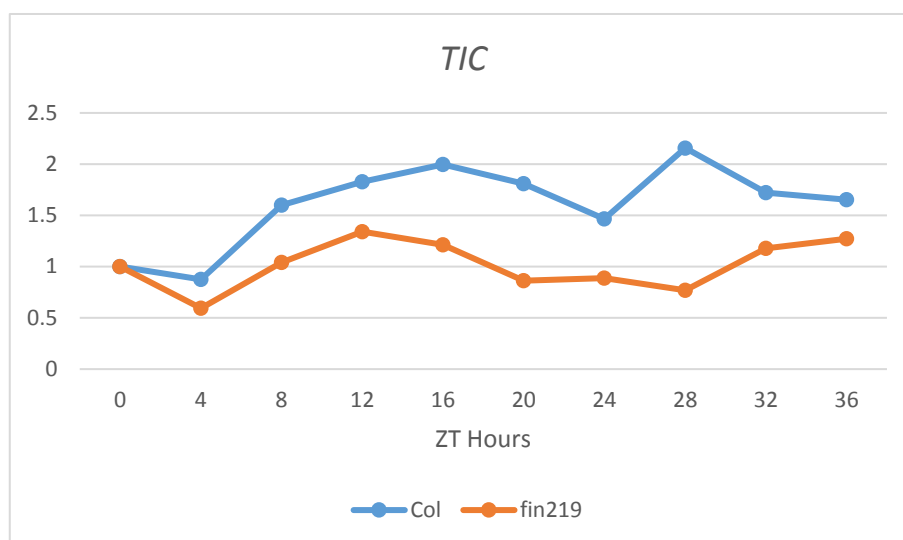
律在 *FIN219* 基因不表現的情況下變化幅度較小，因此可以推測 *FIN219* 基因能夠參與並影響生物韻律。阿拉伯芥表現 *FIN219* 的生物韻律可以影響生物韻律相關基因的表現，使其基因的表現具有生物韻律。



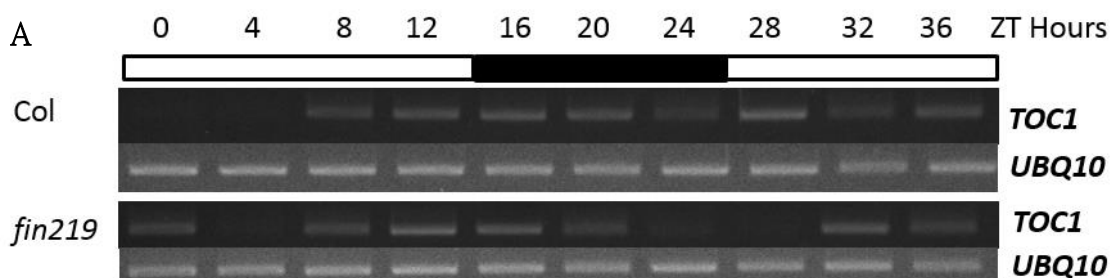
圖二十三、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現 *FIN219* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *FIN219* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 *FIN219* 相對表現量，以 0 小時 *FIN219* 表現量為 1。



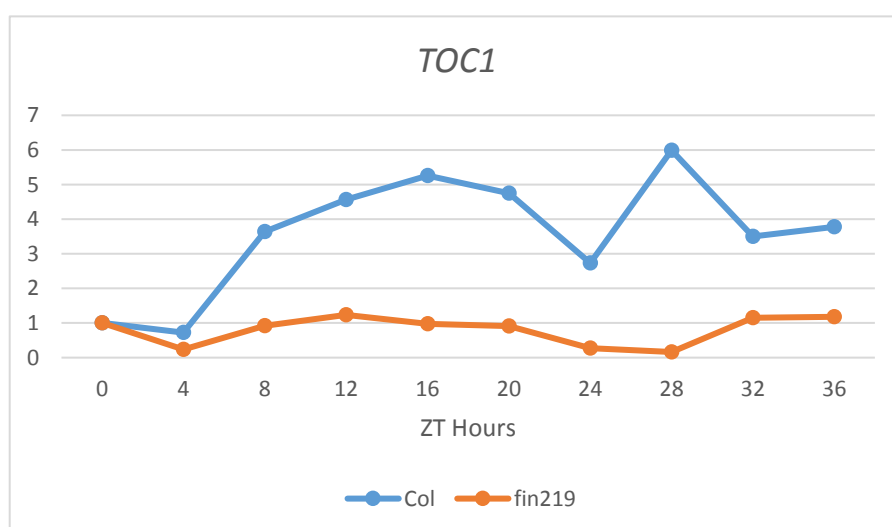
B



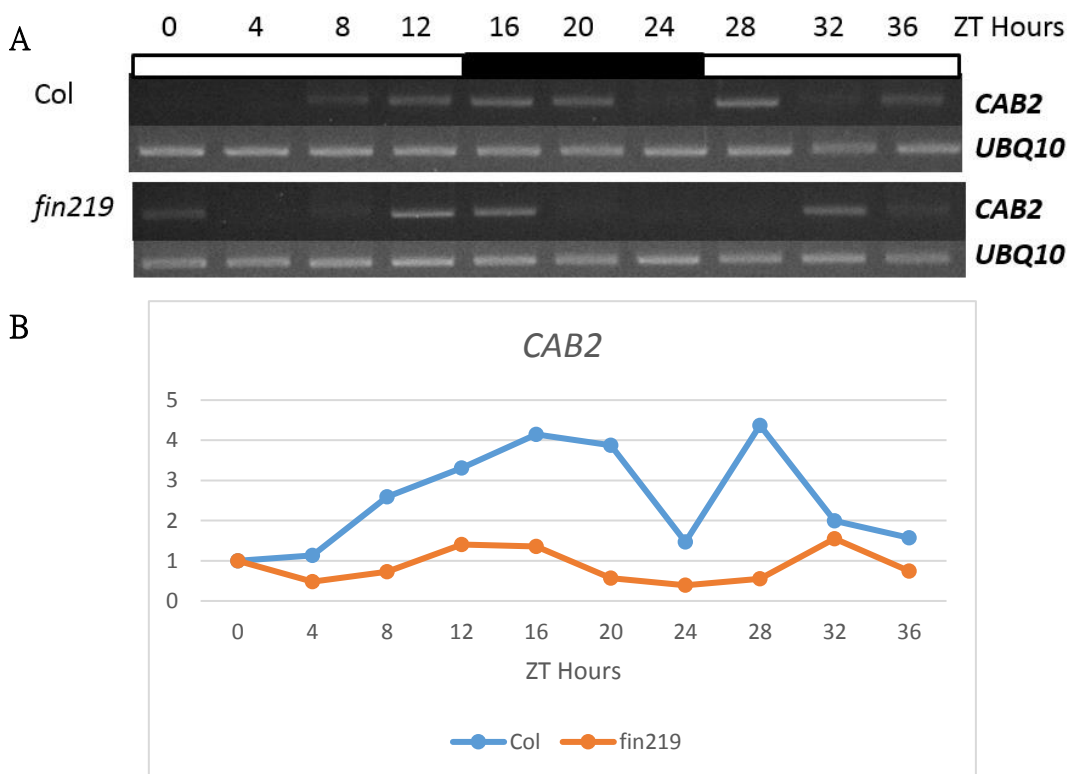
圖二十四、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現 *TIC* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *TIC* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱坐標為 *TIC* 相對表現量，以 0 小時 *TIC* 表現量為 1。



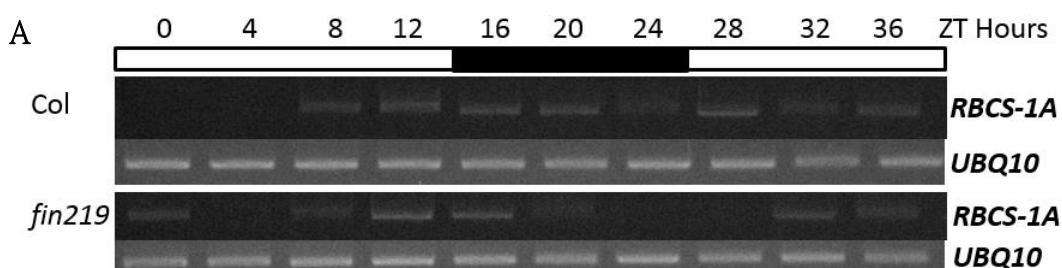
B



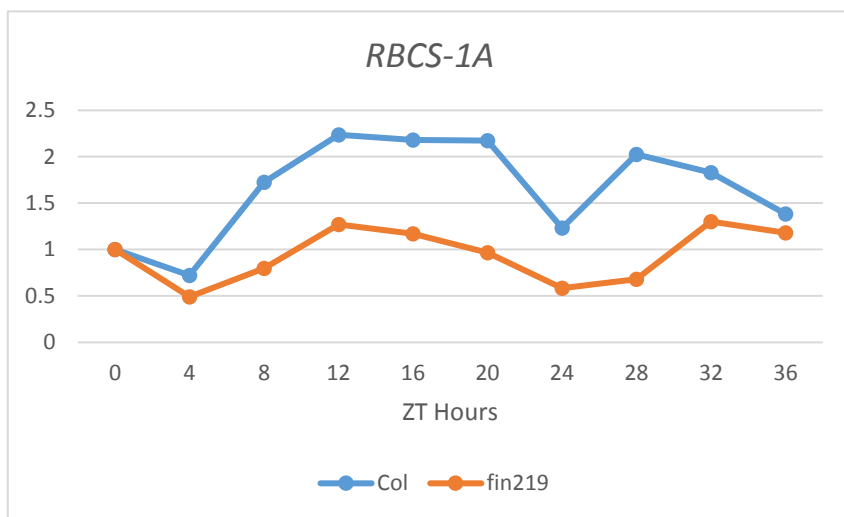
圖二十五、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現 *TOC1* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *TOC1* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 *TOC1* 相對表現量，以 0 小時 *TOC1* 表現量為 1。



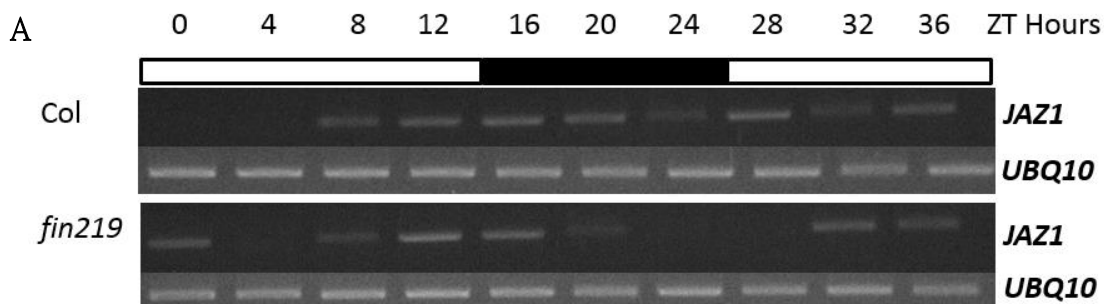
圖二十六、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現受生物韻律調控基因 *CAB2* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *CAB2* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 *CAB2* 相對表現量，以 0 小時 *CAB2* 表現量為 1。



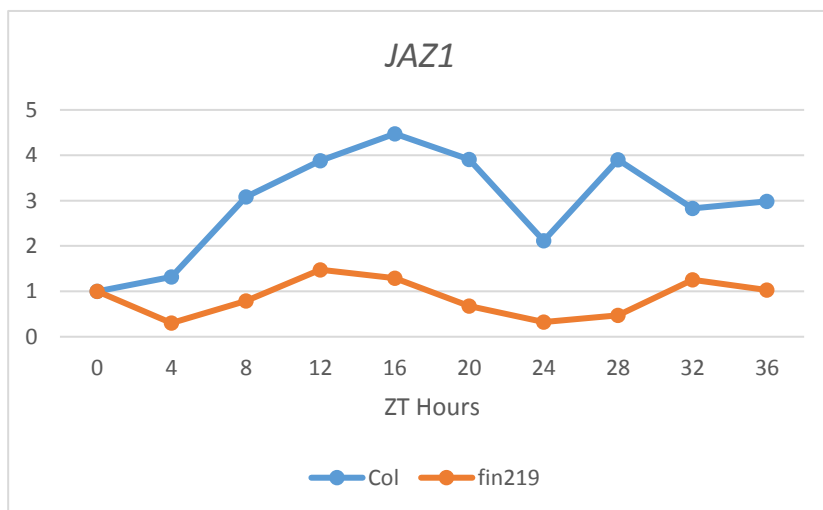
B



圖二十七、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現受生物韻律調控基因 *RBCS-1A* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *RBCS-1A* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 *RBCS-1A* 相對表現量，以 0 小時 *RBCS-1A* 表現量為 1。



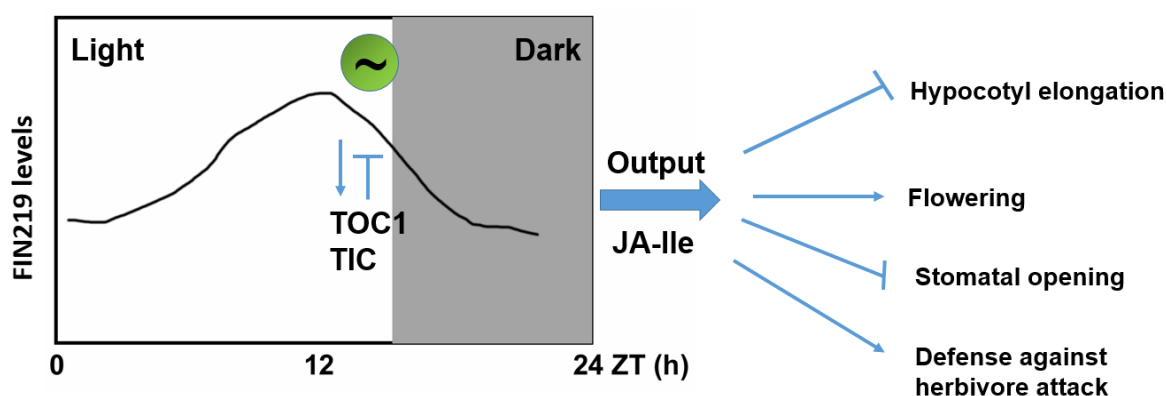
B



圖二十八、A 部分為 PCR 檢測阿拉伯芥表現茉莉酸相關基因 *JAZ1* 的結果，上圖為 Columbia，下圖為 *fin219* 突變株，*UBQ10* 為 internal control。B 部分為將 *JAZ1* 表現以 ImageJ 軟體量化後的曲線圖。橫坐標為取樣時間(小時)，縱座標為 *JAZ1* 相對表現量，以 0 小時 *JAZ1* 表現量為 1。

肆、結論

FIN219 基因多表現於維管束與下胚軸，其產生的蛋白質能夠活化抵抗外在傷害或疾病的植物賀爾蒙 JA，使小菜蛾進食減少，顯著的影響阿拉伯芥的防禦反應。而除了參與阿拉伯芥的防禦反應，*FIN219* 也和阿拉伯芥中生物韻律的調控息息相關。*FIN219* 基因與蛋白質的表現皆具有進入光照中時會增加，進入黑暗則減少的生物韻律現象，此生物韻律現象會受到 JA 的訊息傳遞影響，外加 JA 會使 *FIN219* 進入光照後表現量增加的時間提前，也增加較多，而減少幅度也較大；外加 JA 合成抑制劑 DIECA 則會使阿拉伯芥表現 *FIN219* 的生物韻律消失，表示 JA 的訊息傳遞能夠影響阿拉伯芥表現 *FIN219* 的生物韻律。阿拉伯芥 *FIN219* 的表現具有生物韻律的現象，此生物韻律模式也參與了生物韻律機制的調控，不但能夠影響阿拉伯芥表現 *TIC*、*TOC1*、*CAB2*、*RBCS-1A* 與 *JAZ1* 等基因的生物韻律，使阿拉伯芥表現其基因的生物韻律在缺乏 *FIN219* 的表現時減弱，也能夠促進阿拉伯芥開花與對草食動物的防禦，並抑制其下胚軸伸長以及氣孔的開啟（圖二十九）。



圖二十九、阿拉伯芥表現 *FIN219* 的生物韻律對其生長過程影響的機制。綠色圓圈代表的是生物時鐘，*FIN219* 的生物韻律會正調控兩者的表現 *TOC1* 和 *TIC* 會抑制 JA 含量，以及 JA 相關的防衛基因表現；箭頭代表促進，倒 T 型是抑制作用，這些影響都是經過多個步驟才能達

成的。

伍、參考資料及其他

徐偉、嚴善春(2005)。茉莉酸在植物誘導防禦中的作用。生態學報。

張紫煥(2005)。阿拉伯芥 FAR-RED INSENSITIVE219 與 Cryptochrome2 的交互作用對藍光和茉莉酸訊息傳遞之整合的功能性研究。國立台灣大學植物科學研究所。

曾美瑄(2004)。阿拉伯芥中 FIN219 基因表現的功能性研究。國立台灣大學植物科學研究所。

賴建璋(2013)。阿拉伯芥 FIN219 基因與 FHY1 的交互作用對遠紅光和茉莉酸訊息傳遞的影響。國立台灣大學植物科學研究所。

Ding, Z. & Millar, A. J. & Davis, A. M. & Davis, S. J. (2007). TIME FOR COFFEE Encodes a Nuclear Regulator in the Arabidopsis thaliana Circadian Clock. NCBI.

Hsieh, H. L., & Haruko, O. (2014). Molecular interaction of jasmonate and phytochrome A signaling. Journal of Experimental Botany.

Kolmos, E. & Schoof, H. & Plumer, M. & Davis, S. J. (2008). Structural insights into the function of the core-circadian factor TIMING OF CAB2 EXPRESSION 1 (TOC1). Journal of circadian rhythms.

Lupas, A. (1996). Coiled coils: new structures and new functions. NCBI.

Millar, A. J. & Kay, S. A. (1991). Circadian Control of cab Gene Transcription and mRNA Accumulation in Arabidopsis. The PLANT Cell.

Neil A. Campbell & Jane B. Reece (2014)生物學第八版(下)。台灣：偉明出版。

Seo, P. J. & Mas, P. (2015). STRESSing the role of plant circadian clock. Cell Press.

Shin, J. & Heidrich, K. & Sanchez-Villarreal A. & Parker, J. E. & Davis, S. J.(2012). TIME FOR COFFEE Represses Accumulation of the MYC2 Transcription Factor to Provide Time-of-Day Regulation of Jasmonate Signaling in Arabidopsis. PMC.

Wang, J. G. & Chen, C. H. & Chien, C. T. & Hsieh, H. L. (2011). FAR-RED INSENSITIVE219 Modulates CONSTITUTIVE PHOTOMORPHOGENIC1 Activity via Physical Interaction to Regulate Hypocotyl Elongation in Arabidopsis. PMC

Yu , X. H. & Liu, H. T. & Klejnot , J. & Lin, C. T. (2010). The Cryptochrome Blue Light Receptors.

The American Society of Plant Biologists.

Wikipedia , https://en.wikipedia.org/wiki/Circadian_rhythm 。2016 年 9 月 11 日 。

Baidu 百科 , <http://baike.baidu.com/view/48354.htm> 。2016 年 10 月 24 日 。

揚州大學 , goo.gl/HBfJWK 。2016 年 10 月 24 日 。

87994.com , goo.gl/6U37qH 。2016 年 10 月 28 日 。

【評語】 060018

茉莉酸在植物防禦上扮演很重要的角色，本作品從多個方向來探討茉莉酸在生物韻律變化上的新功能，研究成果頗為豐碩，也很有創意，對光和生物韻律的相似相異處同處可做進一步的瞭解。