

Title	The Isolation of cDNAs of Gibberellin Regulated Genes from Azuki Bean Epicotyls
Author(s)	Kaneta, Tsuyoshi
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.11501/3128853">https://doi.org/10.11501/3128853</a>
DOI	10.11501/3128853
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	かね た つよ し 金 田 剛 史
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 1 2 9 5 3 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科生理学専攻
学位論文名	The isolation of cDNAs of gibberellin regulated genes from azuki bean epicotyls (アズキ上胚軸においてジベレリンによって発現の変化する遺伝子の 単離と解析)
論文審査委員	(主査) 教授 柴岡 弘郎  (副査) 教授 小倉 明彦 助教授 米崎 哲朗

#### 論 文 内 容 の 要 旨

植物ホルモンの一種であるジベレリンは高等植物の茎の伸長生長を促進する作用を持っている。アズキの芽生えの上胚軸より調製した切片においては、オーキシシン (IAA) と同時にジベレリン ( $GA_3$ ) 処理を行うと IAA による伸長が  $GA_3$  によって促進される。さらに、 $GA_3$  と IAA 同時処理を行ったときの伸長時に表皮細胞の細胞質表層微小管が長軸と垂直に配向していることが観察されており、 $GA_3$  による微小管配向変化と伸長促進との因果関係が論じられている。この  $GA_3$  の伸長促進作用と細胞質表層微小管の配向変化作用に  $GA_3$  による遺伝子発現が関与しているか否かを、転写阻害剤アクチノマイシン D を用いて検討した。

アズキの上胚軸切片において、 $GA_3$  による伸長促進は  $GA_3$  を IAA 処理よりも前に処理することによっても見られることが知られている。 $GA_3$  前処理中にアクチノマイシン D 処理を行い、これらの薬剤を洗い、その後の IAA 処理中の伸長を測定した結果、 $GA_3$  前処理による伸長促進は  $GA_3$  前処理中に添加したアクチノマイシン D によって阻害されたが、アクチノマイシン D 単独での前処理はその後に続く IAA 処理による伸長には阻害効果を示さなかった。このことから  $GA_3$  による伸長促進に  $GA_3$  単独処理時に発現する遺伝子が必要であることが示唆された。

次に、基本溶液あるいは基本溶液 +  $GA_3$  前処理後 IAA 処理を行ったアズキ上胚軸切片の表皮細胞の細胞質表層微小管の配向を間接蛍光抗体法により染色して観察した結果、 $GA_3$  前処理に長軸と垂直に配向した細胞質表層微小管を持つ細胞の割合を伸長促進に先立って増加させる効果があることが示された。この  $GA_3$  前処理による微小管の配向変化もアクチノマイシン D により阻害されることがわかった。このことから  $GA_3$  による微小管配向変化にも  $GA_3$  によって発現する遺伝子が必要であることが示唆された。

そこで、ディフェンシャルスクリーニングによる遺伝子の単離を行い、 $GA_3$  処理で発現量の増加する 5 種と、減少する 1 種の cDNA を単離した。これらの中の発現量の減少する遺伝子についてシーケンス解析を行った結果、この遺伝子が茎の伸長に対して阻害効果を持つ植物ホルモンであるエチレンの生合成系の酵素である ACC-oxidase の遺伝子と全長にわたって高い相同性を持つことが明らかとなったので、この遺伝子を AB-ACO (azuki bean ACC-oxidase) と命名した。 $GA_3$  がアズキ上胚軸切片中の ACC-oxidase 活性を低下させることも明らかにされたが、 $GA_3$  は茎の伸長を促進する条件である IAA 存在下において、ACC-oxidase の基質である ACC の蓄積量、ひいてはエチレン生産量をも増加させることが示され、 $GA_3$  処理による ACC-oxidase の発現量および活性の減少は、 $GA_3$  によって蓄積した ACC が過剰なエチレン生成による伸長阻害を阻止するには役立ってはいるものの、 $GA_3$  によ

る伸長促進の直接の要因にはなっていないことが明らかになった。

GA<sub>3</sub>処理で発現量の増加する5種のcDNAについて、それぞれGAUR1,2,3,4,5と命名し、ノーザンブロット解析を行った結果、GAUR1,2,3,4は伸長促進作用の現れ始める前であるGA<sub>3</sub>処理後30分で発現量の増加が見られ、GAUR5はそれより後のGA<sub>3</sub>処理後6時間後から発現の差が現れ始めた。シーケンス解析の結果、GAUR4,5はそれぞれシベレリンによって発現量が増加することが既に知られている遺伝子(GAST1,  $\gamma$ -TIP)のホモログで、他の3種は新規の遺伝子であることがわかった。これらの遺伝子のアズキのトランスジェニック植物を利用した機能解析を行うことを検討中である。

#### 論文審査の結果の要旨

金田剛史君は、植物ホルモンであるジベレリンのアズキ上胚軸に対する伸長促進作用についての研究を行い、ジベレリンがエチレン合成酵素の発現を抑制すること、5種類の遺伝子の発現を促進することを明らかにした。これらの成果はジベレリンの作用機構研究に重要な貢献をなすもので、博士(理学)の学位論文として十分価値あるものと認める。