The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	The Isolation of cDNAs of Gibberellin Regulated Genes from Azuki Bean Epicotyls
Author(s)	Kaneta, Tsuyoshi
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3128853
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【40】

氏　　名	金田剛史（かねた つよし）
博士の専攻分野の名称	博　士（理　学）
学位記番号	第　12953　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，ディファレ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クエ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の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_3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_3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_3処理後6時間後から発現の差が現れ始めた。シークエンス解析の結果，*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*, γ-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。