

Title	Structure and Expression of Peroxidase Genes in Arabidopsis thaliana
Author(s)	Chokchai, Intapruk
Citation	大阪大学, 1994, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/38815">https://hdl.handle.net/11094/38815</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	チョクチャイ インタブルク Chokchai Intapruk
博士の専攻分野の名称	博士(工学)
学位記番号	第 11347 号
学位授与年月日	平成6年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科醗酵工学専攻
学位論文名	Structure and Expression of Peroxidase Genes in <i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナのペルオキシダーゼ遺伝子の構造と発現)
論文審査委員	(主査) 教授 高野 光男 教授 大嶋 泰治 教授 二井 将光 教授 今中 忠行 教授 新名 惇彦 教授 卜部 格

#### 論文内容の要旨

本論文は生物界に普遍的に存在する基本的な酸化還元酵素であるペルオキシダーゼの遺伝子を最も単純な高等植物、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) から3種類単離、構造決定し、遺伝子の発現様式を明らかにしたもので、本文4章より構成されている。

第1章では、微生物、植物、動物起源のペルオキシダーゼの構造の一般的特徴および作用機構を3次元構造と関連して概説している。

第2章では、西洋ワサビのペルオキシダーゼ遺伝子のcDNAをプローブにシロイヌナズナのゲノムライブラリーより2つのアイソザイム遺伝子、*prxCa*と*prxEa*を単離し、塩基配列を決定している。遺伝子の配列の比較から、*prxCa*と*prxEa*は共に4エクソン、3イントロンから成ることを推定している。*prxCa*と*prxEa*のコード領域はそれぞれ西洋ワサビの中性アイソザイム遺伝子、*prxC1b*、塩基性アイソザイム遺伝子、*prxC3*と高い相関性があることを示している。

第3章では第2章で得られた*prxCa*と*prxEa*のエクソン構造を確認するためにそれぞれのcDNAの構造をあきらかにしている。ゲノム遺伝子の5'および3'両端領域に相当する合成DNAプライマーを用い、mRNAに対して逆転写-PCR法によりcDNAを得ている。その塩基配列は推定されたエクソン部分の配列と完全に一致することを示している。また*prxCa*のcDNAをプローブに新たなペルオキシダーゼ遺伝子、*prxCb*のcDNAを得ている。

第4章では、*prxCa*と*prxEa*遺伝子の上流のプロモーター活性をリポーター遺伝子として大腸菌の $\beta$ -グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子に連結し、タバコ・プロトプラストでのGUSの一過性発現により比較し、*prxEa*のプロモーターが高い転写活性を有することを示している。ノザン解析により*prxCa*はシロイヌナズナの根、茎、葉いずれでも発現しているのに対し*prxEa*は根で特異的に発現していることを示している。そこで上記融合遺伝子をタバコに導入し、GUSの発現を調べたところ、器官特異的発現がタバコにおいても再現され、*prxEa*の根特異的発現に関するシス配列が開始コドンの上流-123 bpと-281 bpの間にあることを明らかにしている。

## 論文審査の結果の要旨

植物のペルオキシダーゼ群は過酸化水素の除去、リグニンの生合成と分解、細胞壁タンパク質とセルロースの架橋、成長ホルモンであるオーキシンの酸化、傷害・感染に対する防御反応など多様な機能を果たしているが、高等植物には多種類のペルオキシダーゼとそのアイソザイム遺伝子が存在するため、個々のペルオキシダーゼの機能は不明である。本論文は最も単純な高等植物で、一般にアイソザイム遺伝子が少ないシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) の3種類のペルオキシダーゼ遺伝子の構造を明らかにし、各遺伝子の発現様式を明らかにしたもので、その成果は以下に要約される。

- (1) 西洋ワサビのペルオキシダーゼ遺伝子の cDNA をプローブにシロイヌナズナのゲノムライブラリーより2つのアイソザイム遺伝子, *prxCa* と *prxEa* を単離している。次いで、ゲノム遺伝子の5' および3' 両端領域に相当する合成 DNA プライマーを用い、mRNA に対して逆転写-PCR 法により cDNA を得ている。
- (2) ゲノム DNA と cDNA の塩基配列の比較から、*prxCa* と *prxEa* は共に4エクソン、3イントロンから成ることを明らかにしている。*prxCa* と *prxEa* のコード領域はそれぞれ西洋ワサビの中性アイソザイム遺伝子, *prxC1b*, 塩基性アイソザイム遺伝子, *prxC3* と高い相同性があることを示している。また、*prxCa* の cDNA をプローブに新たなペルオキシダーゼ遺伝子, *prxCb* の cDNA を得ている。
- (3) *prxCa* と *prxEa* 遺伝子上流のプロモーター活性をレポーター遺伝子として大腸菌の $\beta$ -グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子に連結し、タバコ・プロトプラストでの GUS の一過性発現により比較し、*prxEa* のプロモーターが高い転写活性を有すること、このプロモーターが植物遺伝子の高発現に利用可能なことを示している。
- (4) ノザン解析により *prxCa* はシロイヌナズナの根、茎、葉いづれでも発現しているのに対し *prxEa* は根で特異的に発現していることを示している。そこで上記融合遺伝子をタバコに導入し、GUS の発現を調べたところ、器官特異的発現がタバコにおいても再現され、*prxEa* の根特異的発現に関するシス配列が開始コドンの上流-123 bp と -281 bp の間にあることを明らかにしている。

以上のように、シロイヌナズナのペルオキシダーゼ・アイソザイム遺伝子の構造を初めて明らかにし、その発現特性をも解析している。高い転写能をもつプロモーターの取得と器官特異的発現を制御している遺伝子領域を限定しており、植物分子生物学上、貴重な知見を与えており、植物による遺伝子発現解析系の構築にも貢献するものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。