

Title	西洋ワサビペルオキシダーゼの機能と遺伝子発現制御機構
Author(s)	河岡, 明義
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/39213
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	河 岡 明 義
博士の専攻分野の名称	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 1 8 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 8 月 3 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第2項該当
学 位 論 文 名	西洋ワサビペルオキシダーゼの機能と遺伝子発現制御機構
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 卜 部 格 教 授 大 嶋 泰 治 教 授 二 井 将 光 教 授 今 中 忠 行 教 授 山 田 靖 宙 教 授 新 名 惇 彦

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、西洋ワサビペルオキシダーゼの4種のアイソザイム遺伝子, *prxC1a*, *prxC1b*, *prxC2*, *prxC3* の発現様式, 傷害による *prxC2* の発現制御機構および *prxC1a* の植物生長促進効果についてまとめたもので, 4章から構成されている。

第1章では, 4種のペルオキシダーゼ・アイソザイム遺伝子の西洋ワサビにおける器官特異的発現, β -グルクロニダーゼ (GUS) 遺伝子をレポーターとしたタバコにおける各遺伝子のプロモーターの機能を調べている。*prxC1* グループ遺伝子は西洋ワサビの茎, *prxC2* と *prxC3* は根に転写量が多いことを述べている。タバコプロトプラストにおいていずれの遺伝子のプロモーターも転写活性があるが, 特に *prxC2* が強く, 植物で強いプロモーターとされているカリフラワーモザイクウイルス 35S プロモーターの4~5倍の転写活性があることを明らかにしている。

第2章では, 傷害による西洋ワサビペルオキシダーゼの発現誘導を調べている。西洋ワサビの根, 茎, 葉の各器官に傷害を与えると細胞壁画分のペルオキシダーゼ活性が上昇し, これは塩基性アイソザイムの活性の増大によるものであり, 特に塩基性アイソザイム遺伝子, *prxC2* 転写が傷害により誘導されることを示している。各遺伝子上流とGUSの融合遺伝子を導入したタバコでは, *prxC2* の上流をもつ融合遺伝子のみが傷害により発現が誘導され, GUS 活性が顕著に上昇することを示している。

第3章では, *prxC2* 遺伝子上流の傷害応答に関するシス配列とトランス因子を同定している。遺伝子上流の欠失解析, インビトロ DNA-タンパク質結合反応から翻訳開始点の上流 289bp の CACGTG がシスのコア配列であると推定し, これに変異を与えたものは傷害応答を示さないことを示している。つぎに, このシス配列に結合するタバコの核タンパク質, TFHP-1をコードする cDNA を得, TFHP-1は転写因子特有の bZIP 構造とヘリックス~ループ~ヘリックス構造をもつことを明らかにしている。TFHP-1のアンチセンス遺伝子を導入したタバコは *prxC2* 遺伝子の発現を抑えることを示している。

第4章では, *prxC1a* 遺伝子がタバコの生長を促進する機能があることを示している。この遺伝子の cDNA を組み込んだタバコを数十個体解析した結果, 野生型タバコに比べ遺伝子導入タバコは平均21%生長が促進され, かつ開花期が短縮されることを示している。遺伝子導入タバコは茎の細胞が縦方向に有意に伸長することを明らかにしている。

終章では、本研究で得られた知見について総括し、今後の課題について述べている。

論文審査の結果の要旨

植物のペルオキシダーゼは成長、分化、生体防御における種々の酸化還元反応を触媒する重要な酵素であり、多くのアイソザイムから成るが、各アイソザイムの存在意義、遺伝子の発現様式は明らかになっていない。本論文は、西洋ワサビのペルオキシダーゼの機能と遺伝子の発現制御について、分子生物学的手法を用いて研究を行ったもので、その主な成果を要約すると次の通りである。

- (1) 単離された4種のアイソザイム遺伝子のうち、*prxC1* グループ遺伝子は西洋ワサビの茎、*prxC2* と *prxC3* 遺伝子は根で特異的に発現すること、各遺伝子のプロモーターはタバコにおいても機能するが、特に *prxC2* 遺伝子のプロモーターに高い転写活性があることを明らかにしている。
- (2) 西洋ワサビ植物体に傷をつけるとペルオキシダーゼ活性が上昇するが、これは塩基性アイソザイム遺伝子、*prxC2* の転写が傷害により誘導されるためであること、さらに、この遺伝子の上流部分は異種植物のタバコにおいても、傷害による発現応答を示すことを明らかにしている。
- (3) *prxC2* 遺伝子上流の傷害応答に関与するシス配列が、翻訳開始点の上流 289bp にある CACGTG であることを同定している。また、このシス配列に結合するタバコの核タンパク質、TFHP-1 の cDNA を傷害を与えた葉からクローニングし、構造を決定している。TFHP-1 は転写因子特有の bZIP 構造とヘリックス~ループ~ヘリックス構造をもつことを明らかにし、そのアンチセンス遺伝子は、タバコにおいて *prxC2* 遺伝子の発現を抑制することを示している。
- (4) *prxC1a* 遺伝子を導入したトランスジェニックタバコは、野生型タバコに比べ平均 21% 生長が促進され、かつ開花期が短縮されることを示している。さらに、トランスジェニックタバコは茎の細胞が縦方向に有意に伸長することを明らかにしている。この結果は *prxC1a* 遺伝子の機能の一つを明らかにするとともに、遺伝子組換えによる植物の改良の可能性を示すものである。

以上のように本論文は西洋ワサビペルオキシダーゼ遺伝子の傷害による発現誘導の機構を詳細に解析するとともに、*prxC2* 遺伝子のプロモーターが、既に傷害を受けた状態にある植物培養細胞での遺伝子高発現用プロモーターとしても有用であることを示唆するとともに、*prxC1a* 遺伝子がタバコの生長を促進させる効果を持つことを示しており、植物細胞工学の発展に寄与するところが大きい。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。