

氏 名 (本 籍)	わた なべ たか ひろ 渡 邊 敬 浩 (茨 城 県)
学 位 の 種 類	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	博 甲 第 2517 号
学位授与年月日	平成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
審 査 研 究 科	生物科学研究科
学 位 論 文 題 目	Regulatory Mechanism of the Expression of a Wound-inducible ACC Synthase Gene in Winter Squash (<i>Cucurbita maxima</i>) (カボチャ (<i>Cucurbita maxima</i>) における傷害誘導型 ACC 合成酵素遺伝子の発現調節機構の解析)
主 査	筑波大学教授 農学博士 酒 井 慎 吾
副 査	筑波大学教授 理学博士 林 純 一
副 査	筑波大学教授 理学博士 堀 輝 三
副 査	筑波大学助教授 理学博士 佐 藤 忍

論 文 の 内 容 の 要 旨

移動することのできない植物は、外的環境の変化に対し、生存が可能になるように、生理反応レベル及び遺伝子発現レベルでの調節を行っている。この反応は環境応答と呼ばれ、植物が物理的障害を受けた際に示す応答は環境応答の良いモデル系として知られ、様々な解析が成されてきている。しかし、現在までの研究は個々の現象論に止まることが多く、植物の傷害応答機構を全体的に解明することが急務であると考えられる。本論文は、植物の傷害応答減少においてシグナル物質として重要な役割を担うことが示唆されているエチレン、ジャスモン酸 (JA)、活性酸素群 (ROS) の 3 者間の相関性について、エチレン産生機構の分子レベルでの解析を通じ解明する事を試みた研究報告である。

植物が物理的傷害を受けるとエチレン産生が誘導されることが知られ、このエチレン産生は、生合成系の鍵控訴である傷害誘導型 1-アミノシクロプロパン-1-カルボン酸 (ACC) 合成酵素により制御されている。しかし、その発現調節機構について詳細な解析を行った報告はない。著者は、傷害誘導型 ACC 合成酵素遺伝子の発現調節機構を明らかにするため、傷害により多量のエチレン産生の誘導されるカボチャ中果皮組織より、傷害誘導型 ACC 合成酵素をコードする遺伝子である *CM-ACS1* の cDNA を単離し、JA、ROS を指標とした詳細な発現解析を行った。その結果、(1) 傷害後 1 時間以内にはエチレン産生が誘導され、それ以降 7 時間に渡り時間経過に伴った増加が観察されるが、このエチレン産生量の増加パターンと *CM-ACS1* の転写量の増加パターンが一致する、(2) 内性 JA 量は傷害後 1 時間後は変化しないが、2 時間以降に顕著に増加し、この内性的な JA 合成を阻害することで *CM-ACS1* の発現が抑制され、また、外性的な JA 処理によっても *CM-ACS1* の発現、ならびにエチレン産生から促進される、(3) 傷害後数分以内に ROS の産生が誘導され、この産生を阻害する事で *CM-ACS1* の発現ならびにエチレン産生が抑制されることが明らかになり、傷害を受けたカボチャ中果皮組織でのエチレン産生量は *CM-ACS1* の転写量によって調節されており、JA ならびに ROS が共に *CM-ACS1* の発現を促進的に制御することでエチレン産生に寄与していることを明らかにした。

さらに、ROS による *CM-ACS1* の発現促進が内性 JA 含量の増加を介してのものである可能性が考えられたため、検証を行った。その結果、(1) ROS の産生阻害剤処理により JA 合成が影響を受けない、(2) ROS の産生阻害剤は

傷害後2時間目までの*CM-ACS1*の発現を効果的に抑制するものの、3時間が経過すると抑制効果が減少する。(3) JA 合成阻害剤は傷害後1時間目までは*CM-ACS1*の発現に対して抑制効果を示さないが、それ以降は時間経過に伴い明確な抑制効果を示すことが明らかになった。以上の結果により、傷害を受けたカボチャ中果皮組織でのエチレン産生は、ROSならびにJAがそれぞれの産生じきに依拠して*CM-ACS1*の発現を独立的に制御することで調節されていることが明らかにされた。これらのことは、植物が物理的傷害を受けたときに産生するROS, JA, そしてエチレンという3種のシグナル物質が植物の傷害応答反応においてそれぞれ独立した機能を担う一方、ROSとJAはエチレンの産生を促進し、エチレンは防御関連遺伝子の発現を促進するというように、全体としての調和を保ちつつ傷害応答反応に寄与していることを示唆しているものと考えられる。

審 査 の 結 果 の 要 旨

現在までの高等植物の傷害応答反応の解析は、個々の現象論の域をでることがなく、植物が傷害に対してどのような反応を引き起こして適応しているかを、全体的に解明することが重要な課題として残されていた。本論文は、傷害応答反応において重要な機能を担うことがそれぞれに示唆されてきた、活性酸素群、ジャスモン酸、そしてエチレンという3種のシグナル物質の産生レベルでの相関について解析を行った最初の報告であり、また、未知であった傷害誘導型 ACC 合成酵素遺伝子の発現調節機構について明らかにした点についても高く評価される。近年の研究により、上記のシグナル物質が、その下流に位置する目的遺伝子の発現制御においても協調的に機能していることが示唆されており、本研究により得られた成果は、植物の傷害応答反応を総括的に解明する研究の第一歩として、その価値は高い。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。