

氏名(本籍)	佐々木 和 生 (青森県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博乙第1,057号		
学位授与年月日	平成7年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	STUDIES ON IAA METABOLISM IN CULTURED CELLS OF CARROT (<i>Daucus carota</i> L.) (ニンジン培養細胞における IAA 代謝に関する研究)		
主査	筑波大学教授	理学博士	藤 伊 正
副査	筑波大学教授	理学博士	猪 川 倫 好
副査	筑波大学教授	理学博士	鎌 田 博
副査	筑波大学助教授	理学博士	沼 田 治

論 文 の 要 旨

本論文では、ニンジンの各種培養細胞を用い、植物の生理機能制御因子として最も重要な植物ホルモンの一種であるオーキシシン、特にインドール酢酸 (IAA) の代謝について研究を行っている。まず始めに、植物病原微生物として知られている根頭癌腫病菌が保持するオーキシシン合成酵素遺伝子やサイトカイニン合成酵素遺伝子等をニンジン細胞に導入し、IAA を外部から処理しなくとも増殖する培養細胞を樹立した。次に、このニンジン培養細胞に¹⁴Cで標識した IAA を取り込ませ、時間経過と共に標識される物質がどのように変化したかを追跡調査し、外部から投与した IAA が極めて短時間のうちに別の物質へと代謝されることを明らかにした。さらに、この代謝産物を各種高速液体クロマトグラフィーを用いて単離・精製した後、その化学構造を液体クロマトグラフィー/マスペクトログラフィー (LC/MS) や核磁気共鳴法 (NMR) 等で検討し、この代謝産物がアスパラギン酸との結合型、インドールアスパラギン酸 (IAA_{sp}) であることを示した。

次に、この IAA から IAA_{sp} への代謝活性を誘導する物質について検討し、生体内で合成されたものであっても生体外から投与されたものであっても、オーキシシン活性を有する物質によって誘導されることを示した。さらに、タンパク質合成阻害剤や RNA 合成阻害剤を用いた実験により、IAA_{sp} の生成は酵素反応であること、および、IAA を IAA_{sp} へと変換する代謝活性のオーキシシンによる誘導は、転写レベルで制御されていることを明らかにした。また、合成オーキシシンである 2, 4-D はこの代謝活性を誘導はするものの、2, 4-D 自身はこの代謝においては基質とはならないことも明らかにした。

一方、ニンジンでは、体細胞から新たに胚発生を誘導する培養法が確立されており、このような不定胚誘導においてはオーキシンが重要な働きを演じると考えられていることから、不定胚誘導能を保持する細胞（EC）と不定胚誘導能を消失した細胞（NEC）における IAA の代謝の違いを検討した。その結果、NEC では、これまでに見られなかった IAA の新たな代謝産物を見だし、この代謝産物を各種高速液体クロマトグラフィーで分離・精製した。この精製物について、LC/MS や NMR 等でその化学構造を検討し、この物質が、IAA のインドール環が開裂したオキシインドールアスパラギン酸（oxIAA_{sp}）であることを明らかにした。さらに、この oxIAA_{sp} は、IAA が開裂した後にアスパラギン酸が付加されて生じるのではなく、IAA から生じた IAA_{sp} がさらに代謝されて生じる可能性を示した。このような結果から、IAA から IAA_{sp} への代謝は可逆的な反応であり、IAA_{sp} は遊離 IAA の含量を調節するための貯蔵型として機能するとの従来の考え方とは異なり、IAA が IAA_{sp} を経て不可逆的に分解されることもあることを示した。

さらに、EC と NEC における oxIAA_{sp} の経時的変化を詳細に検討し、oxIAA_{sp} は NEC では大量に生成するが、EC ではほとんど検出できないことを明らかにした。この結果から、EC では、IAA_{sp} が遊離 IAA の含量を調節する貯蔵型として機能するが、NEC では、IAA を不可逆的に分解する際の間体として機能することが予測された。そこで、EC と NEC における遊離 IAA 含量を高速液体クロマトグラフィーを用いた蛍光測定によって調べ、EC では NEC に比べて遊離 IAA 含量がおよそ15倍も高いことを明らかにした。このような結果から、EC と NEC の性質の違い、すなわち、不定胚形成の有無は、IAA 代謝の違いによってその一部が説明できる可能性を示し、ニンジンの各種培養細胞における IAA 代謝をさらに詳細に検討することで不定胚形成過程におけるオーキシンの役割が明確になるであろうと結論づけた。

審 査 の 要 旨

高等植物の各種生理反応の制御因子として重要と考えられているオーキシンの代謝機構をニンジン培養細胞を用いて明らかにし、同一化合物が貯蔵型としてばかりでなく不可逆的分解の間体としても利用され、さらに、このようなオーキシン代謝の違いが不定胚形成能力とも密接に関わる可能性を示した本論文は、高等植物の生理機能や形態形成反応を理解する上で重要な知見を与えたものであり、本分野の今後の発展に大きな示唆を与えるものとして高く評価される。

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。