

氏名	NISAR AHMED
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博甲第2574号
学位授与の日付	平成15年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科資源管理科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	Genetic regulation of anthocyanin biosynthesis genes in developing coleoptiles of wheat (<i>Triticum aestivum</i>) (コムギ子葉鞘におけるアントシアニン合成遺伝子の発現制御)
論文審査委員	教授 野田 和彦 教授 武田 和義 教授 小倉 久和

学位論文内容の要旨

During these studies, the anthocyanin pigmentation in developing wheat coleoptiles at molecular level was investigated. Firstly partial sequences of wheat anthocyanidin synthase (*ANS*) and UDP-glucose 3-O- glucosyltransferase (*UFGT*) genes were cloned and genetic regulation of early (*CHS*, *CHI*, *F3H*) and late (*DFR*, *ANS*, *UFGT*) genes of anthocyanin biosynthesis pathway were determined. All the early and late genes were expressed in pigmented coleoptiles of wheat cv. Hope whereas the late genes were not expressed in non-pigmented coleoptiles of wheat cv. Chinese Spring (CS). All the six genes were expressed in CS (Hope 7A), a substitution line in which chromosome 7A of Hope have been substituted into CS genetic background. Chromosome 7A of Hope carries the dominant form of *Rc* gene for red coleoptile colour whereas CS carries the recessive allele. This result suggested that wheat *Rc* gene for red coleoptile colour is a transcription factor and involved in the regulation of late anthocyanin biosynthesis genes.

To further verify this result, maize anthocyanin regulatory genes *Cl* and *B-peru* were delivered into developing coleoptiles by microprojectile bombardment. *Cl* and *B-peru* were known to activate late genes in heterologous plant tissues. Anthocyanin spots were induced in the coleoptiles two days after the particle delivery. This result further supported the previous findings that *Rc* gene for red coleoptile colour is a transcription factor for late anthocyanin biosynthesis genes.

Various factors affecting the frequency of transient expression in developing coleoptiles were also examined. Coleoptiles collected 36 h after germination were most suitable tissue for expression of delivered genes. One to 5 μ g DNA for coating gold particle was sufficient for induction of anthocyanins. Helium gas pressure 900, 1100, 1300 or 1500 pounds per square inch or distance 10, 15 or 20 cm between the stopping screen and coleoptile affected the efficiency of gene transfer. Seedling arranged in a circle with a radius of 1 cm on MS medium plate were targeted well by gold particles. The results showed that developing wheat coleoptile was a good tissue for transient assay of wheat genes and *Cl* and *B-peru* can be used as a reporter gene in genetic transformation experiments.

論文審査結果の要旨

本論文は、コムギの発達中子葉鞘におけるアントシアニン色素の着色について分子遺伝学的に解析した。最初に、アントシアニン合成系遺伝子のなかの anthocyanidin synthase (ANS) と UDP-glucose 3-O-glucosyltransferase (UGT) に対応する遺伝子を部分的に単離することに成功した。既に、単離されていたアントシアニン合成系の遺伝子、*CHS*, *CHI*, *F3H*, *DFR* と共に *ANS*, *UGT* を用い、子葉鞘の着色を支配する *Rc* 遺伝子の遺伝子型に違いがあるコムギ系統での、これら遺伝子の発現を調査した。緑色の子葉鞘を示す系統 (rc) では、アントシアニン合成系の後半に働く遺伝子 *DFR*, *ANS*, *UGT* の遺伝子発現が抑制されていることを明らかにした。また、トウモロコシのアントシアニン合成系遺伝子の転写因子として知られる *C1/B-peru* を緑色を示す子葉鞘に導入することにより、アントシアニンが発現することを示した。これら結果は、*Rc* 遺伝子がアントシアニン合成系の後半の遺伝子発現を調節する転写因子である可能性を示した。アラビドプシスで最近アントシアニン合成系の遺伝子発現に係る転写因子の分析が進んでいるが、作物でこのような転写因子に関する情報は始めてである。また、調査した全てのアントシアニン合成系の遺伝子が光により誘導されることを示した。

次に、コムギの遺伝子発現を調査する上でコムギを使用した一過的遺伝子発現システムが重要であるが、このシステムを開発した。Microprojectile bombardment 法を用い、遺伝子発現に最も適した子葉鞘の発達時期、DNA 量、Helium gas 圧等の条件を明らかにした。このシステムは、コントロールとして用いる場合、通常使用される GUS と比較し、アントシアニン発現量を組織を破壊せずに推定できる点で有利である。

以上のように、この論文はコムギにおけるアントシアニン合成系遺伝子の遺伝子の単離と子葉鞘におけるアントシアニン合成を制御している因子が転写因子であることを示唆し、一過的発現システムの開発に寄与した。従って本論文は博士（学術）の学位に値するものと判定した。