

氏名	PERMPONG SRIPRASERTSAK
授与した学位	博士
専攻分野の名称	学術
学位授与番号	博乙第3461号
学位授与の日付	平成12年 3月25日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)
学位論文の題目	Plant defense responses and control of gene expression : Structure and function of the promoter of <i>PSPAL2</i> , a pea defensive gene encoding phenylalanine ammonia-lyase (植物防御応答と遺伝子発現の制御:エンドウ <i>PAL2</i> プロモーターの 構造と機能について)
論文審査委員	教授 白石友紀 教授 杉尾 剛 教授 田原 誠

学位論文内容の要旨

フェニルアラニンアンモニアリアーゼ(PAL)は全身獲得抵抗性のシグナル分子であるサリチル酸や細胞壁リグニンの前駆体を合成する他、エンドウではファイトアレキシン合成の鍵酵素である。本研究ではエンドウの防御遺伝子であるPALをコードする*PSPAL2*遺伝子の構造と発現制御機能の解析を行った。DNA塩基配列解析の結果、*PSPAL2*は90塩基のイントロンにより分断される2つのエクソンから構成されており、724個の推定アミノ酸からなる分子量79kDaのポリペプチドは、特にマメ科植物のPALタンパク質と86から95%の高い相同性を示した。*PSPAL2*遺伝子のプロモーターには多くのフェニルプロパノイド合成系酵素遺伝子のプロモーターに保存されているACに富むBox-I, Box-IIやATに富むBox-IVが同様な位置関係で存在していた。また、-406から-2196の上流域には逆転写酵素遺伝子などと相同性を示すレトロトランスポゾン(RT)様配列が存在していた。*PSPAL2*遺伝子の転写調節機構を解明するために、様々な長さのプロモーターをクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)遺伝子に連結し、エンドウプロトプラストにエレクトロポレーション法により導入後、一時的なCAT活性を測定することによりエリキター応答に必要なプロモーター配列を解析した。また、同様にプロモーター配列をβ-グルクロニダーゼ遺伝子に連結し、タバコ植物に導入した後、菌接種や傷処理によるプロモーター活性の変動を解析した。それらの結果、上記の刺激に対する*PSPAL2*の転写活性は、Box配列が存在する-406から+110の領域に加え、上流のRT様配列が共存することにより著しく増加することが判明した。本RT様配列はエンドウの他の防御遺伝子である*PSCHS1*遺伝子のプロモーター上流にも存在していることより、*PSPAL2*など少なくとも一部の防御遺伝子の転写活性化には転写開始点近傍のBox配列だけでなくRT様配列も関与する複雑な機構が存在していることが推察された。

論文審査結果の要旨

本学位論文は、エンドウの防御遺伝子である PAL をコードする *PSPAL2* 遺伝子の構造とプロモーターの機能解析を行ったものである。構造解析の結果、*PSPAL2* によってコードされる PAL タンパク質は 724 個の推定アミノ酸からなる分子量 79kDa のポリペプチドであり、特にマメ科植物の PAL タンパク質と 86 から 95% の高い相同性を示した他、他の双子葉植物の PAL タンパク質とも比較的高い相同性を示すことを明らかにした。また、*PSPAL2* 遺伝子のプロモーターには多くのフェニルプロパノイド合成系酵素遺伝子のプロモーター近傍に保存されている AC に富む Box-I, Box-II や AT に富む Box-IV が同様な位置関係で存在していることを明らかにした。更に、特記的事項として *PAPAL2* 遺伝子のプロモーター上流域に逆転写酵素遺伝子などと相同性を示すレトロトランスポゾン様配列を発見したことを挙げるができる。

本論文の後半では、保存された Box 配列とレトロトランスポゾン様配列の転写調節機構における役割を明らかにする為、エンドウプロトプラストでのトランジェントアッセイと形質転換タバコ植物体を用いたステーブルアッセイの2つの手法を用いて解析を行ってきた。それぞれのアッセイ系ではクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子或いは β -グルクロニダーゼ遺伝子をレポーター遺伝子とし、エリクターや傷処理、(非)病原菌接種による応答を、レポーター遺伝子由来の酵素活性によって評価した。それらの解析結果から、*PSPAL2* の転写活性には転写開始点近傍の Box 配列領域と共に上流のレトロトランスポゾン様配列がプロモーターに共存することにより著しく増加することを明らかにした。また、本レトロトランスポゾン様配列中には、Box 配列の中でも特に発現制御において重要と思われた Box-II 配列に非常に類似した配列が複数個存在していることを見出した。これらの配列の転写制御における役割は今後の更なる解析を待たねばならないが、レトロトランスポゾン様配列が、菌接種などのストレス応答性発現を正に制御し得るその発見は重要である。

本博士論文提出者は10年前から、上記の研究に携わり、これまでに多くの論文を公表してきた。これらの植物防御遺伝子の発現制御機構に関する成果は防御応答を分子レベルで解明する上で重要な知見を提供するものである。以上のことから、本論文は博士(学術)に値する論文であると判断した。