

氏名	武 智 克 彰
授与した学位	博 士
専攻分野の名称	農 学
学位授与番号	博甲第 2063 号
学位授与の日付	平成 12 年 3 月 25 日
学位授与の要件	自然科学研究科 生物資源科学専攻 (学位規則第 4 条第 1 項該当)
学位論文の題目	Molecular analysis of a gene encoding a putative myrosinase-binding protein specifically expressed in flowers of <i>Arabidopsis thaliana</i>
論文審査委員	教授 本吉 總男 教授 武田 和義 教授 野田 和彦

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、シロイヌナズナの花器由来のライブラリーからディファレンシャルスクリーニングによって単離された4B-1 cDNAクローンについて解析を行った。完全長4B-1 cDNAクローンの塩基配列を決定したところ、アブラナ科においてmyrosinaseと複合体を構成している数種のmyrosinase-binding protein (MBP)をコードした遺伝子と高いホモロジーを示し、この相同性から4B-1 cDNAクローンに対する遺伝子を*f-AtMBP*と命名した。*f-AtMBP*がコードするタンパク質*f-AtMBP*の推定アミノ酸配列をシロイヌナズナにおけるMBPのホモログである*AtMBP*及び*B. napus*におけるMBP-related protein (MBP-RP)のアミノ酸配列と比較すると、前者*f-AtMBP*のはアミノ酸配列の中盤からC末端にかけて、後者はN末端から約150アミノ酸までの領域が非常に類似していた。Northern解析及びRNA *in situ* hybridizationにより*f-AtMBP*の発現を調査したところ、花器の若い雌蕊、雄蕊、花卉、及び胎座の一部の領域で主に発現していたが、一般的にmyrosinaseが存在しているといわれる種子中の胚軸や子葉のミロシン細胞では発現は観察されなかった。*Brassica*における既知のMBP、MBP-RPは外生的なシグナル分子の処理や物理的な傷害により発現が誘導されるが、*f-AtMBP*の発現はこのような処理により誘導されなかった。また花器特異的に発現するMBPの存在も知られていないことから*f-AtMBP*は新規のMBPであると思われた。*f-AtMBP*の類似配列の存在を、数種の植物でSouthern解析により調査したところ、アブラナ科以外の作物には認められず、アブラナ科特有の遺伝子であることが示された。また*f-AtMBP*の機能を解析するために、*f-AtMBP*のsense配列及びantisense配列を強発現する形質転換体を作製したが、形態や生死への影響は認められなかった。

論文審査結果の要旨

本論文は、シロイヌナズナの花器特異的に生産される転写産物の cDNA の一つ 4B-1 の解析に発し、ユニークな発現パターンを示すミロシナーゼ結合タンパク質 (MBP) 遺伝子の発見に至る研究内容を含むものである。

本研究の初期には、データベースの中に 4B-1 の配列に相同性をもつ配列が存在しなかったことから、このクローンを研究対象としたが、研究の過程で、その遺伝子産物は、N 端側がブラシカの MBP と、c 端側がシロイヌナズナの *AtMBP* と高い相同性をもつことが判明した。また、ノザン解析と、自ら改良した *in situ* ハイブリダイゼーション法によって、4B-1 の遺伝情報が花器で特異的に発現すること、これまで知られた MBP ファミリーとは異なり、傷害やジャスモン酸処理によって誘導されないことを示した。続いて、4B-1 に相当するゲノム上の遺伝子 (*f-AtMBP*) の構造を決定し、また染色体上の位置を明らかにした。さらに、類似配列は、ブラシカ目のみに見出されることを示し、さらに、形質転換実験から、本遺伝子は、形態形成とは関係がなく、二次代謝と関係するものであることを推定している。

本研究成果は、新遺伝子の同定とともに器官特異的遺伝子機能の解明の重要な手掛かりを与えるものであり、博士の学位に価するものと判定する。