

氏名 安 成 才

学位(専攻分野) 博 士(農 学)

学位授与番号 博 甲 第 1085 号

学位授与の日付 平成 4 年 9 月 30 日

学位授与の要件 自然科学研究科生産開発科学専攻

(学位規則第4条第1項該当)

学位論文題目 エンドウカルコン合成酵素遺伝子の構造と発現制御

論文審査委員 教授 奥 八郎 教授 井上 成信 教授 中筋 房夫
教授 田野 達男 教授 早津 彦哉

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

植物体における病原菌の感染成立の機構について、病原菌の侵入から感染成立までの各段階における宿主側の性質、生理反応が病害抵抗性にどのように関与しているのかを詳細に解明することは近代の病害防除に非常に重要な課題である。当研究室では、エンドウ (*Pisum sativum*) とエンドウ褐紋病菌 (*Mycosphaerella pinodes*) の系を用いて、植物病原菌の宿主特異性の機構を形態学的・生化学的に解析してきた。エンドウ褐紋病菌は孢子発芽液中にエンドウの動的抵抗反応を誘導するエリシター (分子量約70,000Daの多糖類) と、その抵抗反応を遅延させるサプレッサー (分子量約1,000～5,000Daの複数の糖ペプチド) を分泌する。本論文では、エリシター及びサプレッサーによるエンドウの動的抵抗性の発現制御機構を解析するために、ピサチン生合成系において、重要な鍵酵素として働いているカルコン合成酵素 (CHS) をコードする遺伝子のクローニングとその解析を行った。その結果、最終的に36個のCHS cDNA、7個のCHSゲノム遺伝子のクローンが得られた。これらの遺伝子について詳細な構造解析を行った結果、cDNAは3種 (タイプ I, II, III) のメジャーなタイプと5種のマイナーなタイプに分類され、タイプ I, II, IIIはエリシターで誘導を受ける遺伝子の転写産物由来であると予想された。一方、CHSゲノム遺伝子は7種類に分類され、そのうちcDNAタイプ I と II に対応するPsCHS1 と PsCHS2 の構造解析を行うと共にPsCHS1, PsCHS2 各遺伝子のプロモーターに含まれるエリシター誘導に必要なDNAシス因子の探索をトランジェント・トランスフォーメーション法を用いて行った。その結果、両遺伝子ともエリシターによって誘導を受けるプロモーター部位を持つこと、さらにPsCHS1 のエリシター誘導に必要なシスエレメントが Box-2 を含む-524～-164の間に存在していることが示唆された。

論文審査の結果の要旨

植物は微生物の攻撃を受けた場合、微生物の生産するエリシターを認識して動的抵抗性を発現させて対抗する。一方病原菌は、抵抗性発現を抑止する機構を備え、エンドウ褐紋病菌はその機構として、グリコペプチドから成るサプレッサーを生産して抵抗性を乗り越え、感染を果たす。

本論文は、エンドウの化学的動的抵抗性の一つ、ピサチン生合成の鍵酵素、カルコン合成酵素（CHS）遺伝子のエリシター、サプレッサーによる発現、制御機構を解析したものである。

まず、エンドウをエリシターで処理し、生ずるmRNAから36個のCHSのcDNAを得た。これらの構造解析を行い整理すると3種の（タイプI, II, III）のメジャータイプと5種のマイナータイプに分けられる。

一方、エンドウのゲノムライブラリーからCHS遺伝子7種が見出し、構造解析の結果からPsCHS1とPsCHS2がエリシターにより発現するcDNAタイプIとIIに相当し、2つの遺伝子は約6.5 k bのスペーサー領域を挟んでテンダムに並んでいることを明らかにした。更に、これらの両遺伝子の転写開始点を決定した。次にこの2つのゲノム遺伝子のプロモーター部分を含む5'上流DNA断片をCAT遺伝子に連結して得たキメラプラスミドpCNC1（PsCHS1）とpCNC2（PsCHS2）を構築し、エンドウのプロトプラストに導入し、エリシターで処理したところ高いCAT活性が誘導された。その活性の誘導はサプレッサーにより誘導は抑制される。pCNC1のデリーションクローンをつくってしらべたところ、エリシターおよびサプレッサーによる誘導、制御に必要なシス因子が-524-164に存在していることを明らかにした。

この論文は農学博士の学位論文として十分価値のあるものと判定する。