

論文の要約

報告番号	甲 第 1083 号	氏名	吉見 圭永
学位論文題目	植物の細胞外プロテオグリカンの機能に関する研究		
論文の要約			
<p>アラビノガラクトタン-プロテイン (AGP) は、植物界に普遍的に存在する細胞外プロテオグリカンであり、AGPが有する複雑なアラビノガラクトタン (AG) 糖鎖は植物細胞の形態制御に重要であると予想されている。しかしながら、AG糖鎖の機能解析手法が存在しないため、AGPがどのように細胞の形態を制御しているのかは明らかではない。そこで本論文では、AG糖鎖の分子機能解析に利用できるAG糖鎖分解酵素の探索・同定と、特異的分解酵素を利用したAG糖鎖の新規な分子機能解析系の構築を行った。</p> <p>第一章では、これまで明らかになっているAGPの基本構造や合成・分解に関わる酵素、生理機能に関してまとめている。</p> <p>第二章では、利用可能なAG糖鎖特異的分解酵素の探索のため、特異的なAG糖鎖分解酵素の1つであるエンド-β-1,3-ガラクタナーゼの探索と同定を行った。エノキタケ由来のエンドβ-1,3-ガラクタナーゼであるFvEn3GALを用いた配列解析から、真菌や細菌にFvEn3GALのホモログ遺伝子が存在することが分かった。これらのうち、<i>Aspergillus flavus</i>と<i>Neurospora crassa</i>の遺伝子をそれぞれAf3GとNcEn3GALと命名し、RT-PCRでクローニングした。ピキア酵母を用いて調製した組換え酵素、rAf3GとrNcEn3GALの性状を調べたところ、β-1,3-ガラクトタンに特異的に作用することが分かった。また、<i>Irpex lacteus</i>由来エキソ-β-1,3-ガラクタナーゼ (I13GAL) とこれらのエンド-β-1,3-ガラクタナーゼを同時にAGPに作用させたところ、I13GAL単独で作用させるよりも分解率が著しく上昇することが明らかになった。これらの結果から、エンド-β-1,3-ガラクタナーゼは、AG糖鎖主鎖の内部に作用してエキソ型酵素の作用部位を生み、AG糖鎖の分解を促進することが分かった。</p> <p>第三章では、AG糖鎖の劇的な分解を引き起こすI13GALをデキサメタゾン (DEX) 誘導プロモーターに連結してシロイヌナズナに導入し、DEX::I13GAL植物を作出した。I13GALタンパク質自体が植物の形質に影響を与えていないことを確かめるために、点突然変異により活性を失ったI13GAL-PMを導入したDEX::I13GAL-PM植物も作出した。DEX::I13GAL導入植物、DEX処理時にのみAGP分解活性が上昇することが分かった。また、DEX::I13GAL導入植物の抽出液のYariv試薬やHPLCを用いた解析では、DEX処理により植物生体内のAGPが分解され、AG糖鎖由来の様々なオリゴ糖が遊離することが確かめられた。一方で、DEX処理を行わない場合や、DEX::I13GAL-PM植物をDEX処理した場合にはオリゴ糖の遊離は見られなかった。これらの結果から、DEX処理時にAG糖鎖の分解を人為的に引き起こすAGP分子機能解析系を構築できたことが確認された。DEX::I13GAL植物では、処理するDEX濃度に依存して細胞肥大が起き、胚軸や子葉の形態異常が起きることが分かった。このときの細胞壁の各成分を定量したところ、DEX処理したDEX::I13GAL植物ではセルロース量が顕著に減少していた。セルロース合成酵素CesAの発現量は変化していなかったため、AG糖鎖の分解はセルロース合成酵素の活性に影響を与えることが予想された。さらに、表層微小管を可視化してDEX処理後の経時的な観察を行ったところ、先に細胞肥大に伴って表層微小管の配向が変化していることが示唆された。本研究により、AGP糖鎖のAG糖鎖は、セルロースの合成活性制御や表層微小管の配向制御を通して細胞形態の制御に関わることが初めて提案された。</p> <p>第四章では、AGPの機能解析の今後の展望について述べた。</p>			