

論文内容の要旨

申請者氏名 李 銀 禎

In plants, sugars are major substrates for synthesis of complex carbohydrates such as starch and cell wall, as well as respiratory substrate. In addition, sugars play an important role as signaling molecules modulating expression of various genes involved in diverse physiological processes. For example, genes encoding photosynthetic enzymes are repressed by sugar supply since photosynthesis is not necessary under such a condition. Genes for starch breakdown are induced by sugar starvation to generate more sugars. However, the mechanism by which these genes are regulated by sugars remains to be elucidated. In this study, I focused on identification and characterization of genes that are regulated by sugars using a model plant, *Arabidopsis*.

In the chapter I, I screened genes whose expression was regulated by sucrose using cDNA macro-arrays, and confirmed thirty-six genes to be regulated by supply of sucrose in detached leaves by RNA blot analysis. Eleven of them encoding proteins for amino acid metabolism and carbohydrate metabolism were repressed by sugars. The remaining genes induced by sugar supply were for protein synthesis including ribosomal proteins and elongation factors.

In the chapter II, I characterized genes encoding putative β -galactosidase, β -xylosidase and β -glucosidase that were induced by sugar depletion. Since those proteins showed a high similarity with cell wall-degrading enzymes, it was conceivable that those hydrolases were induced to break down cell wall materials producing carbon source under sugar-starved condition.

In fact, activities of β -galactosidase, β -xylosidase and β -glucosidase increased in culture medium of suspension cells. Secretion of β -galactosidase into culture medium was also confirmed using antibody. In addition, suspension cells grew with galactose, xylose and glucose as carbon source as well as with sucrose. These sugars repressed induction of genes for the putative cell wall degrading enzymes, suggesting that plant cells released those sugars from cell wall and consumed them. This

was directly confirmed by measurement of cell wall polysaccharides contents showing a marked decrease of pectin and hemicellulose I associating with sugar starvation. These results supported the idea that one of functions of cell wall is to serve as 'storage of carbon source'. RNA blot analysis and the experiment using GUS reporter gene indicated that genes for those cell wall degrading enzymes were induced in most of organs when plants were kept in dark for one day. It was also suggested that induction of these genes was not mediated by hexokinase-dependent signaling pathway that often plays a role in sugar signaling.

In the chapter III, I attempted to identify *cis*-element of sugar responses using a typical sugar-induced gene. I analyzed the promoter of gene encoding a protein kinase which was induced by sugar as well as cold and salt stresses. Promoter dissection suggested that the element for sugar induction was different from those for other stresses.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 李 銀禎

光合成産物である糖は、植物の生体を構成する成分やエネルギー源として利用される。また、糖はシグナル因子としての役割も担っており、多くの遺伝子が糖によって制御されるが、その制御メカニズムはまだ明らかでない。本研究は、糖により発現調節をうける遺伝子を同定することで、植物の炭水化物代謝における理解を深めることを目指した。

第1章では、シロイヌナズナのマクロアレイを用いて、糖添加あるいは糖欠乏によって制御される遺伝子を網羅的に探索し、35遺伝子を同定した。そのうち、糖添加によって誘導される遺伝子は24個あり、その半分以上はタンパク質の合成に関わっていた。糖欠乏によって誘導される遺伝子は11個で、アミノ酸や多糖類の代謝に関わる蛋白質をコードしていた。

第2章では、糖欠乏によって誘導される3個の酵素(*b*-galactosidase, *b*-xylosidase, *b*-glucosidase) 遺伝子の機能解析をおこなった。いずれも多糖の加水分解に働くものと推測された。とくに、*b*-galactosidase は細胞壁の分解に働くグループに属していたことから、これらの酵素は糖欠乏時、細胞壁多糖の加水分解にかかわることが示唆された。シロイヌナズナ培養細胞を用いた実験では、ショ糖により顕著に発現が制御されること、それは hexokinase-independent pathway であることが示された。また、糖飢餓によりこれらの酵素活性が上昇すること、培地中に *b*-galactosidase タンパク質が分泌されることも明らかになった。細胞壁の糖成分を測った結果、pectin と hemicellulose I の成分は糖欠乏時減少した。また、培養細胞はこれらの加水分解酵素により生成すると考えられるグルコース、キシロース、ガラクトースなどの単糖を炭素源として十分、生育した。これらの結果は糖欠乏により上記の遺伝子が発現し、コードするタンパク質が合成されること、それらは細胞外へ分泌され細胞壁を分解、糖を再生している可能性を示唆した。

第3章では、糖によって誘導される遺伝子の promoter 解析を行なった。モデル系として典型的な糖応答遺伝子である *AtSR2* (*Arabidopsis* protein kinase) 遺伝子を利用した。その結果、発現は高濃度の塩や低温でも誘導されること、糖誘導に応答する cis-element と高濃度の塩や低温に応答する cis-element は異なること、などが明らかになった。

以上のように、本論文は細胞壁が糖のリサイクル原料として重要な機能を持つことを明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。