

105 西洋ワサビ培養細胞ペルオキシダーゼ遺伝子のプロモーター解析
 (阪大・工・醸酵) ○岡田尚輔、佐藤慎一、松島直人、中原宏、
 新名惇彦、高野光男

【目的】 臨床検査、酵素免疫法に汎用されている西洋ワサビ (*Armoracia rusticana*) 由来のペルオキシダーゼは糖タンパク質であり、植物体あるいは培養細胞において多くのアイソザイムの存在が知られているが、その多様性の意義や生理的機能については明かではない。そこで西洋ワサビ・ペルオキシダーゼの遺伝子構造と発現制御機構の解明を目的として本研究を行った。

【方法及び結果】 ペルオキシダーゼ高産生西洋ワサビ培養細胞cDNAライブラリーより得られた中性アイソザイムcDNA prxCla をプローブとして西洋ワサビ培養細胞染色体 DNAライブラリーより新たに prxC2 , prxC3 を含む5種のアイソザイム遺伝子を単離し、その塩基配列を決定した。これら prxC1 , C2 , C3 各遺伝子に特異的なプローブでノーザンブロット法とスロットブロット法を用いた解析より、培養細胞で各遺伝子とも転写量が最も多い事が判明した。また prxC1 は植物体の葉、茎、根部で、 prxC2 は茎、根部で、また prxC3 は根部でのみ転写産物が認められ、組織特異的な発現制御を受けていると考えられる。

この様なアイソザイム遺伝子の発現制御機構を解析するため、各遺伝子の5'非翻訳領域の下流に β -glucuronidase(GUS)遺伝子を連結したプラスミドを作成し、これらの融合遺伝子が機能するか否かについてエレクトロポレーション法を用い、タバコ培養細胞BY2プロトプラストにおける一過性の発現を調べた。その結果 prxC1a, b , C2 , C3 -GUS融合遺伝子はCaMV35Sプロモーター-GUS遺伝子と同程度もしくはそれ以上の発現をしめした。

Genome Structure and Promoter Analysis of Horseradish Peroxidase Isozyme Genes

○Naosuke Okada, Shinichi Satoh, Naoto Matsushima, Koh Nakahara, Atsuhiko Shinmyo and Mitsuo Takano (Dept. Fermt. Technology, Osaka University, Suita, Osaka, 565)

106 パックブン毛状根によるパーオキシダーゼの生産
 (名大・工、*阪大・基礎工、**金印ゆさび)
 ○田谷正仁*, 余山昭彦**, 近藤 修, 本多裕之, 小林 猛

1)目的 植物組織培養における有望な素材として、毛状根細胞が注目されている。毛状根は、土壌細菌 *Agrobacterium rhizogenes* のもつ Ri プラスミドにより誘発される不定根であり、カルス細胞等に見られない特徴を有している。本研究では、熱帯性の水生植物であるパックブン (*Ipomoea aquatica*) からの毛状根の誘導を試み、得られた毛状根が高いパーオキシダーゼ活性を示したので報告する。

2)方法 供試植物体は、パックブン種子(タキイ種苗)より研究室内で栽植したものをを用いた。5% NaClOにより表面殺菌した葉外植片を *A. rhizogenes* (A4株あるいは15834株)と接触させるリーフ・ディスク法により形質転換体を得た。毛状根は、植物ホルモンを含まない Murashige-Skoog (30 g/l ショ糖含有) を用いて、主に、光無照射下、25°Cにて、回転振盪培養した。パーオキシダーゼ活性は、Yamadaらりの方法に準じて測定した。

3)結果 *A. rhizogenes* の感染により、パックブン葉外植片より多数の不定根が出現した。得られた不定根は、いずれも植物ホルモン無添加の Murashige-Skoog 培地中で活発な増殖を示し、毛状根細胞であると考えられた。2株の *A. rhizogenes* から誘発された代表的な毛状根形質転換体について、パーオキシダーゼ活性を測定したところ、2300~2500 U/g-dry mass という高い比活性が得られ、これは、原植物体各部位(500~600 U/g-dry mass)の約5倍に相当した。さらに、毛状根の増殖速度は、原植物体より数倍速く、パックブン毛状根の培養により、極めて高いパーオキシダーゼの生産性が達成されるものと思われる。

1) Y. Yamada et al. : J. Chem. Tech. Biotechnol., 38, 31-39, 1987.

Peroxidase Production by Pak-bung Hairy Root

○Masahito Taya, Akihiko Yoyama, Osamu Kondo, Hiroyuki Honda, and Takeshi Kobayashi (Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Nagoya University, Nagoya 464-01)