

Title	配偶体型自家不和合性因子ニホンナシS ₃ -RNaseのX線結晶構造解析
Author(s)	松浦, 孝範
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27645
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	まつ 松 浦 孝 範
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第 16782 号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	配偶体型自家不和合性因子ニホンナシS ₃ -RNaseのX線結晶構造解析
論文審査委員	(主査) 教授 関口 清俊 (副査) 教授 長谷 俊治 教授 月原 富武 助教授 乗岡 茂巳

論文内容の要旨

顕花植物の多くは自己と非自己の花粉を識別し、非自己花粉とのみ受精する自家不和合性という性質を持っている。この現象はS遺伝子座の複対立遺伝子によって制御されていると考えられている。バラ科などでは、雌しべ側S遺伝子産物としてS-RNaseが同定されているが、花粉側S遺伝子産物は未だに発見されておらず、自家不和合性の分子基盤は未だ全容解明に至っていない。本研究では、ニホンナシS-RNaseの立体構造をX線結晶構造解析により明らかにして、S-RNase上の花粉側因子に対する認識部位を予測するとともに、雌しべ・花粉間の自他認識機構を分子レベルで解析するための基礎を築くことを目的とする。

ニホンナシには7種類のS遺伝子型(S₁~S₇)とそれに対応するS-RNaseが同定され、S遺伝子型に対応して著しくアミノ酸配列が変異するHV領域あるいは遺伝子の非同義置換数が同義置換数を上回る4か所のPS領域(PS1~PS4)が花粉側S遺伝子産物との認識に関与していると推測された。7種類のS-RNaseのうち最も糖鎖が少なく、アミノ酸配列の相同性が非常に高いアイソフォームが存在するS₃-RNaseに的を絞り(S₃-RNaseとS₅-RNaseの相同性は95.5%)、PEGを沈澱剤とした蒸気拡散法により結晶を作製した。得られたニホンナシS₃-RNase結晶の空間群はP2₁、単位格子はa=45.4, b=52.4, c=47.4Å, α=γ=90, β=106.5°と決定した。構造解析は多重同型置換法(MIR)により行い、1.5Åの分解能においてR=17.2%, free R=20.2%まで精密化した。

S₃-RNaseの立体構造を立体構造既知のRNase T₂型酵素と詳細に比較したところ、1) 主鎖のトポロジーは自家不和合性に関与しないRNase T₂型酵素とほとんど一致する、2) 活性部位(触媒部位と基質結合部位)の立体構造もRNase T₂型酵素とほとんど同じである、3) HVおよびPS領域はRNase T₂型酵素とは異なったS-RNase特有の構造である、4) HV領域は分子表面に露出し、弱く正電荷を帯びている、5) 4か所のPS領域は活性部位を挟むようにして分子表面に露出している、ということが明らかになった。以上の事実から、S-RNaseの酵素活性は自家不和合性に関与しないRNase T₂型酵素と非常に類似し、HVおよびPS領域は花粉側S遺伝子産物に対する認識部位として十分機能できる構造であることが示唆された。

本研究とほぼ同時に横浜市立大学の井田らにより配偶体型自家不和合性を示すナス科タバコS_{F11}-RNaseの立体構造が1.55Åの分解能で決定された。ナス科ではHV領域が2か所存在し(HVa, HVb)、PS領域が見いだされていない点でバラ科S-RNaseとは異なっている。そこで、S₃-RNaseとS_{F11}-RNaseの立体構造を詳細に比較し、バラ科とナス科の配偶体型自家不和合性の違いを考察した。その結果、1) 活性部位の立体構造の類似性より、バラ科とナ

ス科 S-RNase の酵素活性は非常に類似している、2) バラ科は静電的、ナス科は疎水的に花粉側 S 遺伝子産物と相互作用している、3) ナス科 S-RNase は HVa と HVb 領域が共同して花粉側 S 遺伝子産物を認識しているが、バラ科では HV 領域単独で認識している、4) 自家不和合性において PS4 領域はナス科には見られないバラ科特有の機能を果たしている、ということが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は、高等植物の配偶体型自家不和合性を規定している雌しべ側因子である S-リボヌクレアーゼを結晶化し、その構造を X 線構造解析により解明したものである。本研究により、これまで蛋白質の一次構造の比較に基づいて推定されてきた S-リボヌクレアーゼと他の類縁リボヌクレアーゼとの構造上の類似性が原子レベルで証明されるとともに、花粉側因子による認識部位を蛋白質の精密な立体構造に基づいて推定することが可能となった。以上の研究成果は、配偶体型自家不和合性の分子機構を解明する上で重要な知見を提供するものであり、博士（理学）の学位論文として十分に価値あるものと認める。