



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	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

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 1 6 7 8 2 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 ($S_1 \sim S_7$) 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 S_3 -RNase に的を絞り (S_3 -RNase と S_5 -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 S_3 -RNase 結晶の空間群は $P2_1$ 、単位格子は $a=45.4$, $b=52.4$, $c=47.4 \text{ \AA}$, $\alpha=\gamma=90$, $\beta=106.5^\circ$ と決定した。構造解析は多重同型置換法 (MIR) により行い、 1.5 \AA の分解能において $R=17.2\%$, $\text{free } R=20.2\%$ まで精密化した。

S_3 -RNase の立体構造を立体構造既知の RNase T_2 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 T_2 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 T_2 型酵素とほとんど同じである、3) HV および PS 領域は RNase T_2 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 T_2 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 1.55 \AA 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 (HV_a, HV_b)、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、 S_3 -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。