



Title	Higher Plant Sulfite Reductase : Studies on Gene Structure and Expression, Reductant Supplying Systems and an Application to Phytoremediation
Author(s)	榎原, 圭子
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42737
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名	さかき 柳原圭子
博士の専攻分野の名称	博士(理学)
学位記番号	第15644号
学位授与年月日	平成12年6月29日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Higher Plant Sulfite Reductase: Studies on Gene Structure and Expression, Reductant Supplying Systems and an Application to Phytoremediation (高等植物亜硫酸還元酵素: 遺伝子構造と発現、還元力供給系および亜硫酸耐性植物分子育種の試みに関する研究)
論文審査委員	(主査) 教授 長谷俊治
	(副査) 教授 寺島一郎 教授 谷澤克行 助教授 佐伯和彦

論文内容の要旨

硫黄同化系酵素の一つである亜硫酸還元酵素(SiR)は、葉緑体やプラスチドに局在し、sulfiteから sulfideへの還元反応を触媒する。タバコ (*Nicotiana tabacum* cv. SR1) cDNA library から SiR cDNA, (NtSiR1) を単離した。成熟体ポリペプチドは632アミノ酸残基からなっており、高等植物、ランソウ、大腸菌の SiR と相同性を示した。Nt SiR1 遺伝子は、葉、茎、根および花弁において同程度発現しており、亜硫酸還元反応はいずれの器官でも行われていることを示唆していた。また SiR 染色体クローニングも単離し、SiR 遺伝子は、ハプロイドあたり 1 コピーであることを明らかにした。

高等植物 SiR は、亜硫酸還元に必要な還元力を光合成器官においては光化学系 I 由来の電子をフェレドキシン(Fd)を介して受け取り、非光合成器官においては NADPH 由来の電子を Fd-NADP⁺還元酵素(FNR)、Fd を介して受け取るといわれている。トウモロコシには 4 種の Fd イソ蛋白質(Fd I ~ Fd IV) が光合成器官、非光合成器官に分布している。非光合成型 Fd である Fd III cDNA を単離し、解析を行った。Fd III 前駆体は、152アミノ酸残基からなり、その成熟体領域はトウモロコシの光合成型 Fd である Fd I とアミノ酸レベルで 65% の相同性を示した。Fd I が葉で特異的に発現し、その転写産物は黄化植物の光照射によって著しく増加するのに対し、Fd III の転写産物はすべての器官に検出され光誘導性はみられなかった。これらの Fd mRNA の器官特異的分布は Fd イソ蛋白質の分布とよく一致しており、Fd イソ蛋白質の発現は転写レベルで制御されていた。

SiR の反応に必要な生理学的な還元力供給系を解明するために、光依存性あるいは NADPH 依存性の亜硫酸還元再構成系をトウモロコシ SiR、Fd I あるいは Fd III、Leaf-FNR あるいは Root-FNR を用いて構築した。光還元した Fd I と Fd III は同程度の SiR への電子伝達能を示した。一方、NADPH、FNR を用いて還元した場合、Fd III は Fd I より数倍高い電子伝達能を示した。Fd と FNR の 4 種の可能な組み合わせのうち、非光合成型の Fd III と Root-FNR が最も高い亜硫酸還元能を示した。NADP⁺の割合が増加するに連れて亜硫酸還元速度は減少した。これらの結果から、Fd III の存在と高い NADPH/NADP⁺比が非光合成器官における亜硫酸還元には必須であることが判明した。大腸菌の NADPH 依存性 SiR 欠損株のシステイン要求性は、Fd I ではなく Fd III とトウモロコシ SiR を共発現させることで回復した。

トウモロコシ SiR cDNA をタバコで構成的に発現させた。トウモロコシ SiR 抗体を用いたウエスタン解析では形質転換体にのみ 65kDa のポリペプチドが検出された。このポリペプチドは葉緑体ストロマに局在しており、成熟体

型として存在していることが明らかとなった。形質転換タバコの SiR 活性は野性株と比較して1.5-1.9倍に上昇し、亜硫酸に対する耐性が上昇していた。

論文審査の結果の要旨

柳原圭子君は、高等植物の硫酸同化系の酵素である亜硫酸還元酵素の遺伝子及び cDNA をタバコより単離、その構造や発現様式を明らかにした。また、緑葉に加えて根のような非光合成器官でも本酵素が機能していることに着目し、新規に見い出した非光合成型のフェレドキシンが亜硫酸の還元反応に必要な電子を供給していることを、in vitro の再構成系を用いて証明した。さらに、本酵素を過剰発現している形質転換タバコを作出して、亜硫酸に対する抵抗性が上昇することを示し、植物の環境適応力の増強の可能性を示唆した。これらの業績は、博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。