

イオウは動植物にとって重要な必須元素である。植物体内で、アミノ酸やビタミンなどの形で有機イオウ化合物が存在し、重要な働きを担っている。必須アミノ酸の中では、システイン、シスチンおよびメチオニンが、イオウを含んでおり、含硫アミノ酸と呼ばれている。グルタチオンは、システインを含むトリペプチドであり、生体内での酸化還元反応に寄与している。一方、分子中にイオウを含み、興味深い生物活性を示す天然物は少なくない。これらの多くは植物の二次代謝産物であり、その含有量は、薬用植物や食用植物の品質を決定する。

これまでの高等植物におけるイオウ代謝系に関する研究は、イオウを成長に不可欠な栄養素の一つとしてとらえたものがほとんどであった。しかし一方で、イオウを含む化合物の生体内での生産および蓄積は、動植物のストレス応答機構に密接に結びついていることが最近明らかにされはじめた。本研究では、これまであまり顧みられなかった、ストレスとがイオウ代謝に及ぼす影響についての研究を行い、イオウ含有二次代謝産物の生産を一次代謝系とを関連づけた。イオウの還元的同化経路はATP スルフィラーゼの下流で分岐し、APS キナーゼにより硫酸化二次代謝産物に、APS レダクターゼによりシステインやグルタチオンに誘導される。グルコシノレートは、アブラナ科植物の二次代謝産物であり、重要な野菜やスパイスの香味物質である。分子内に酸化型、還元型のイオウを含むことから、イオウ代謝系がこの物質の生産と密接に関連していると考えられる。第1部では、シロイヌナズナを用い、イオウの還元同化系の遺伝子、特にこの分岐点に存在する遺伝子が傷害ストレス、ジャスモン酸メチル処理で誘導されることと、遺伝子の誘導はイオウ含有二次代謝産物であるグルコシノレートの蓄積に結びついていることを示した。

植物体内にはシステインのチオール基と重金属のキレーションにより安定なクラスターを作ることにより、解毒を行うペプチドおよびタンパク質がある。ファイトケラチン、メタロチオネインと呼ばれ、その生産は重金属ストレス耐性と強く関連している。クラスター内のイオウの量がカドミウムに比して大きい程、生体内で無毒な形になっていると考えられている。そこで第2部では、イオウ代謝系の遺伝子のカドミウムストレス条件下での挙動を調べた。その結果、ATP スルフィラーゼ、APS レダクターゼ、亜硫酸レダクターゼなどのイオウ還元同化系の遺伝子が誘導されることが明らかになった。また、この誘導は重金属耐性に関与するチオール化合物の蓄積に結びついているが、グルコシノレート蓄積量には影響しないことを見い出した。グルコシノレートはイオウの形態としては特殊で、傷害応答に適合した形である。重金属ストレス条件下では、還元型イオウの要求量が大幅に増大するが、その場合でも、グルコシノレートはイオウのプールとしては機能しない事が明らかになった。重金属ストレスと傷害ストレスは完全に別な経路で認識されていると考えられる。

第3部では、イオウ代謝遺伝子を利用して、ストレス耐性植物の分子育種を行った。イネ由来の細胞質型システイン合成酵素をタバコで過剰発現させ、カドミウム耐性を検定した。システイン合成酵素過剰発現タバコは、野生体と比較してカドミウムに対して耐性を示し、自家受粉させて得た種子から得た後代の植物でも耐性は維持された。形質転換体では、チオール化合物、すなわちシステイン、グルタチオン、ファイトケラチンの含有量が野生体より増加しており、これが耐性の一つの要因になると考えられた。一方、湿重量当たりのカドミウム量は野生体より減少しており、重金属の吸収あるいは排出機構が影響を受けていることが推定された。さらに、形質転換植物の耐性機構を明らかにする過程で、トライコームの機能を調べた。トライコームは、防御物質の蓄積、排出など、植物のストレス応答に関連していることは示唆されていたが、重金属耐性における寄与にはほとんど言及されていなかった。本研究で、走査型電子顕微鏡およびX線元素分析装置を用い、重金属の局在化と排出にトライコームが関与しており、その発達にイオウ代謝が関与していることを示した。

以上、本論文では、傷害ストレスと重金属ストレスを具体例として、イオウ代謝系のストレス

応答と、イオウを含む二次代謝産物の生産について述べた。また、イオウ代謝系の強化によるストレス耐性植物の分子育種を行い、カドミウム耐性植物の作出に成功した。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 原田英美子

イオウを含む化合物の生体内での生産および蓄積は、動植物のストレス応答機構に密接に結びついていることが知られている。本研究では、これまであまり顧みられなかった、ストレスがイオウ代謝に及ぼす影響についての研究を行い、イオウ含有二次代謝産物の生産を一次代謝系と関連づけた。

イオウの還元的同化経路はATPスルフリラーゼの下流で分岐し、生じたAPS（アデノシンフォスフォサルフェート）はAPSキナーゼにより硫酸化二次代謝産物に、APSレダクターゼによりシステインをはじめとする一次代謝産物に分配される。グルコシノレートは、代表的な二次代謝産物であり、抗菌活性や昆虫忌避作用を持つ。第1部では、シロイヌナズナを用い、イオウの還元同化系の遺伝子、特にこの分岐点に存在する遺伝子が傷害ストレス、およびジャスモン酸メチル処理で誘導されること、遺伝子の発現誘導はイオウ含有二次代謝産物であるグルコシノレートの蓄積に結びついていることを示した。

ファイトケラチンはシステインのチオール基によって重金属を結合、安定なクラスターを作ることで、解毒を行う。その生産は重金属ストレス耐性と強く関連している。そこで第2部では、イオウ代謝系の遺伝子のカドミウムストレス条件下での挙動を調べた。その結果、ATPスルフリラーゼ、APSレダクターゼ、亜硫酸レダクターゼなどのイオウ還元同化系の遺伝子発現が誘導されることが明らかになった。また、この誘導は重金属耐性に関与するチオール化合物の蓄積に結びついているが、グルコシノレート蓄積量には影響しないことを示した。重金属ストレスと傷害ストレスは完全に別な経路で認識されていると考えられる。

第3部では、イネ由来の細胞質型システイン合成酵素をタバコで過剰発現させ、カドミウム耐性を検定した。システイン合成酵素過剰発現タバコは、野生体と比較してカドミウムに対して耐性を示し、自家受粉させて得た種子から得た後代の植物でも耐性は維持された。形質転換体では、チオール化合物の含有量が野生体より増加しており、これが耐性の一つの要因になると考えられた。一方、湿重量当たりのカドミウム量は野生体より減少しており、重金属の吸収あるいは排出機構が影響を受けていることが推定された。そこで、排出器官と考えられるトライコームの機能を調べた。走査型電子顕微鏡およびX線元素分析装置を用いた実験により、重金属の局在化と排出にトライコームが関与しており、その発達にイオウ代謝が関与していることを示した。

本論文では、傷害ストレスと重金属ストレスを具体例として、イオウ代謝系のストレス応答と、イオウを含む二次代謝産物の生産について明らかな相関があることを示した。また、イオウ同化系の強化によるストレス耐性植物の分子育種を行い、カドミウム耐性植物の作出に成功した。