



光合成生物の環境ストレス応答・耐性の分子機構に関する研究

近畿大学農学部バイオサイエンス学科 教授 重 岡 成

1. はじめに

植物、藻類などの光合成生物は、なぜビタミン C (アスコルビン酸: AsA) などの抗酸化物質を多く含むのか? この素朴な疑問を出発点とし、これまでにわれわれは光合成生物における AsA をはじめとする抗酸化物質と活性酸素種 (ROS) によるレドックス制御を介した環境ストレス応答・耐性やこれと表裏一体にある光合成炭素代謝の分子メカニズムの解明、さらには関連する遺伝子群の導入による環境ストレス耐性や生産性を向上させた形質転換植物の作出 (分子育種) に関する研究を行ってきた。本講演では、光合成生物における種々の環境ストレス応答・耐性の分子機構について、それらの概要を紹介したい。

2. 光合成生物の活性酸素種 (ROS) 代謝およびレドックス制御機構

環境ストレスが植物などの光合成生物にもたらす傷害の多くは ROS による酸化損傷に起因することが知られている。一方、ROS の生成と消去のバランスに依存した細胞内レドックス状態

態の変化はシグナルとして作用し、環境ストレス応答時の防御系の発現をはじめ、プログラム細胞死や生長・発達などの生理現象の制御に関与することが明らかになってきた。われわれは、真核藻類ユーグレナにおける抗酸化酵素として、AsA を特異電子供与体とするペルオキシダーゼ (APX) を単離・精製し、酵素学的性質を明らかにし、EC 1.11.1.11 を登録した。さらに、植物や藻類の APX アイソザイムの分子特性 (遺伝子解析など) を明らかにし、それらを導入した形質転換体を用いた解析から、APX がさまざまな環境ストレス応答に対して主要な ROS 消去酵素として機能していることを示した (図1)。また興味ある点として、ホウレンソウ由来のチラコイド膜結合型およびストロマ型の二つの葉緑体型 APX アイソザイムは、一つの遺伝子にコードされており、選択的スプライシングにより C 末端側の二つのエキソンの使い分けにより生成されていた。そして、転写後調節としての mRNA の (選択的) スプライシング反応の場であるスプライセオソーム形成に関与するセリン/アルギニンリッチ (SR) タンパク質の分子特性と機能解析へと進展し

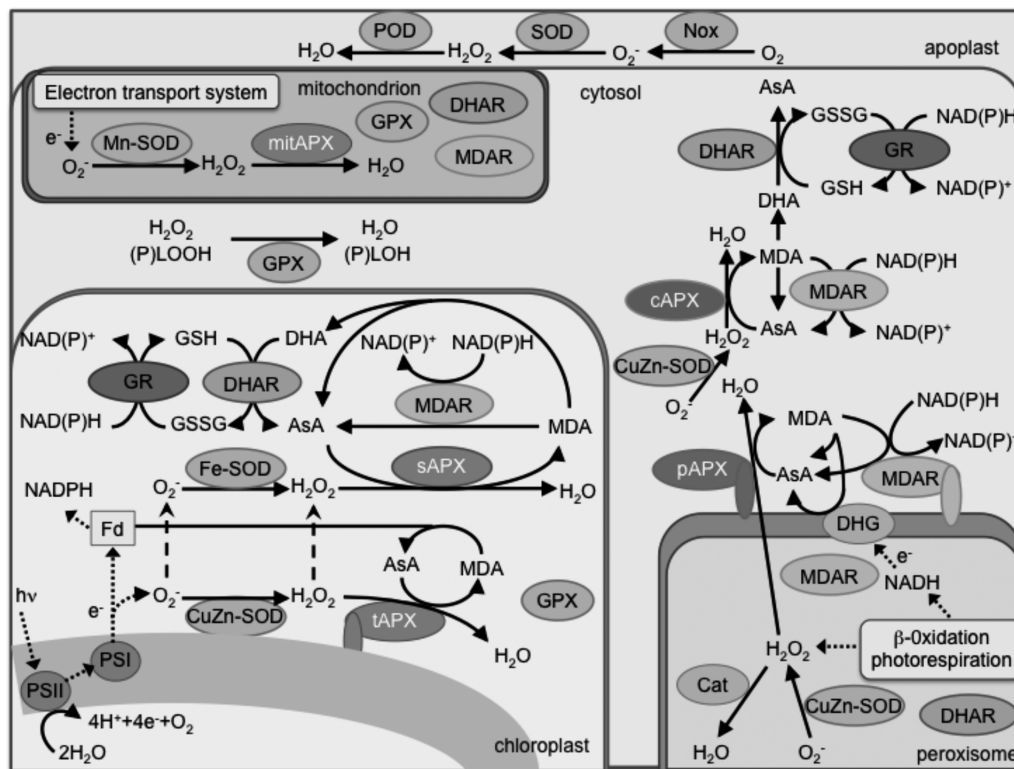


図1 植物細胞内における ROS 代謝

高等植物の細胞内では、APX をはじめとする多くの ROS 消去酵素がそれぞれのオルガネラに局在し、機能していることを明らかにした。

AsA: アスコルビン酸, APX: アスコルビン酸ペルオキシダーゼ (sAPX: ストロマ型, tAPX: チラコイド膜結合型, cAPX: 細胞質型, pAPX: ペルオキシゾーム型), Cat: カタラーゼ, DHAR: デヒドロ AsA レダクターゼ, Fd: フェレドキシン, GPX: グルタチオンペルオキシダーゼ, MDAR: モノデヒドロ AsA レダクターゼ, Nox: NADPH オキシダーゼ, POD: ペルオキシダーゼ, SOD: スーパーオキシドジスムターゼ, PSI (II): 光化学系 I (II)

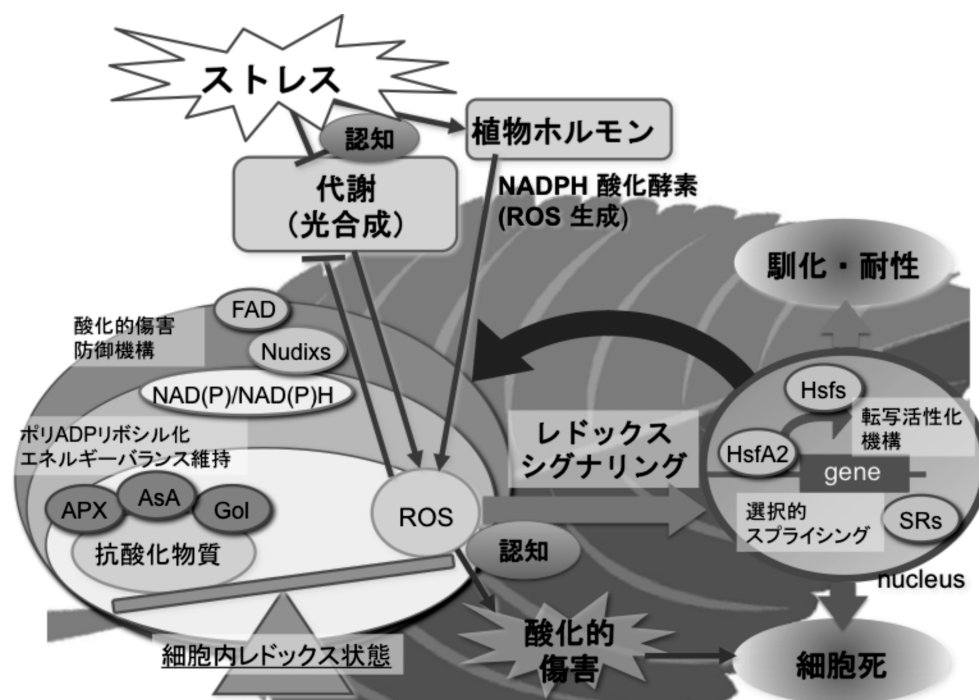


図2 レドックス制御を介した環境ストレス応答の分子制御機構

植物が受ける種々の環境ストレス（紫外線、強光、酸素濃度、塩、 SO_2 、 NO_x 、高温、低温、乾燥、農薬、重金属など）下での細胞内のROS生成・消去および抗酸化剤・酵素によるレドックスバランスは、シグナルとして機能し、種々の転写因子（Hsf など）や種々の酵素（Nudix など）を発現させ、ストレス応答性に関与する。

た。さらに光合成生物におけるAsA生合成系の光による調節機構を明らかにした。最近では、遺伝子破壊株、エストロゲンによる一過的発現抑制系を用いた解析により、APXはROS消去酵素として機能しているだけでなく、APXを含めた抗酸化酵素、AsAなどの抗酸化剤およびROS自身による細胞内レドックス制御が、酸化ストレス、病害、ホルモン応答など、種々の細胞応答の遺伝子発現のシグナリングとして重要な役割を果たしていることを明らかにしてきている（図2）。

3. 植物における新たな環境ストレス応答機構

行動の自由をもたない植物は、時々刻々と変化する環境に応答（馴化）し、さらに強光、乾燥、塩、低（高）温など複合的な激しい環境変化に対応する機構（耐性）を獲得することで、生き残ってきた。その機構の一つとして、新たにヌクレオシド2-リン酸由来の物質を加水分解するNudix（Nucleoside diphosphate linked some moiety X）hydrolaseファミリーの一つの遺伝子（AtNUDX2）を見いだした（図2）。これを基盤に、シロイヌナズナに存在する27種類（細胞質型：12種、ミトコンドリア型：7種、葉緑体型：8種）のNudix hydrolaseタンパク質（AtNUDX: 1～27）を網羅的に解析した。そのなかで、AtNUDX2, 6, 7は酸化ストレス下でADPリボース代謝、NADH代謝を介したポリADPリボシル化反応の活性化、さらには病原菌感染に対する植物独自の防御応答である獲得免疫機構（全身獲得抵抗性）に重要な役割を果たしていることを明らかにした。AtNUDX19はNADPH代謝に機能しており、ストレス時における葉緑体内の厳密なレドックス制御を行っていた。さらに、AtNUDX1は植物が酸化ストレスを受けた際に生成される8-oxo-dGTP・8-oxo-GTPを加水分解し、酸化ヌクレオチドを除去修復することにより、DNA突然変異を引き起こす原因となるストレス時のDNA損傷を防いでいた。また、AtNUDX12, 15, 23はFAD、

CoA代謝制御の主要な調節因子となることを明らかにした。

さらに、ストレス防御遺伝子の発現制御を明らかにするうえで、熱ショック転写因子（Heat shock transcription factor）HsfA2が、強光・熱ストレスにおけるシグナル伝達の中心的な役割を担っていることを報告した（図2）。HsfA2は分子シャペロンである熱ショックタンパク質や抗酸化酵素であるAPX2、適合溶質としてのラフィノース属オリゴ糖合成にかかわるガラクトキノール合成酵素など種々の細胞防御に機能する遺伝子の多くを誘導することによってストレス耐性を制御していた。そして、シロイヌナズナにおいてHsfは多くの遺伝子ファミリーを形成しており、さまざまな環境ストレスに対する独自のシグナル伝達機構を発達させていることを明らかにした。さらに、植物で生合成されるガラクトキノール（Gol）やラフィノース属オリゴ糖が、適合溶質としてだけでなく生体内抗酸化剤としても機能することを初めて証明した。

4. 藻類のROS耐性機構と光合成炭素代謝

これまでに植物において、ストレス応答・耐性と表裏一体にあるカルビン回路で機能するチオール酵素（GAPDH, FBPase, SBPase, PRK）は、フェレドキシン・チオレドキシン系により活性調節を受ける一方で、葉緑体内のレドックスバランスが崩れることによりこれらのシステイン残基（Cys）は容易に酸化され、活性低下をもたらすことが周知の事実として知られていた。しかし、藻類（原核／真核）のチオール酵素には、活性調節に必要なCysが欠損しておりレドックス調節を受けないこと、さらにはこれらの酵素はROSによる酸化失活を受けず、ROS存在下でも高い活性を維持している（ROSに対して耐性を有する）ことを明らかにした。さらに、ラン藻カルビン回路においては、真核光合成生物には存在しない特有の新規酵素フルクトース-1,6-/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ

(FBP/SBPase) が機能していることを明らかにした。これを基盤に、FBP/SBPase 導入による光合成炭素代謝（ソース／シンク器官）への影響や葉緑体インペルターゼの炭素／窒素バランス制御への関与について研究を展開した。

5. ストレス耐性／多収量型植物の分子育種

近年、大気中の高CO₂濃度による地球温暖化、SO_x、NO_xなどによる大気汚染、緑地の砂漠化などの環境変化、さらには爆発的な人口増加による食糧危機などの問題が深刻になってきている。したがって、植物の環境ストレス耐性能の増強さらに生産性向上はこれらの問題解決に極めて有効な手段の一つと考えられる。これまでの研究成果を基盤に、ストレス応答・耐性に関与する遺伝子群の導入により、乾燥、強光、塩などのストレス環境下でも生存できる植物の作出に成功している。さらに、上述のラン藻FBP/SBPaseを植物葉緑体で発現させ、光合成能上昇および収量性向上の形質転換体の作出も行った。また最近、葉緑体ゲノムへの形質転換にも成功し、葉緑体（工場）を用いた有用物質や外来タンパク質やビタミンEなどの高生産への開発の道も開いた。

6. 結 び

以上、われわれが行ってきた研究について、これまでの流れを振り返りつつ、特に最近の成果を中心に概要をまとめた。われわれは、抗酸化剤／抗酸化酵素、ROS、レドックス制御、環境ストレス応答／耐性（Nudix, Hsf など）、カルビン回路、光合成炭素代謝、形質転換植物（分子育種）をキーワードとして、抗酸化物質とROSの生成／消去のバランスに依存したレドックス制御を介した環境ストレス応答・耐性の分子機構および光

合成炭素代謝の制御機構を明らかにしてきた。最後に、これらの成果は、大勢の院修了生、卒業生、研究（補助）員、そして現在の研究室のメンバーの努力の結晶の賜物であることを述べておきたい。

謝 辞 本研究は近畿大学農学部バイオサイエンス学科植物分子生理学研究室（旧 食品栄養学科 栄養化学研究室、食品分子生理学研究室）で行われたものである。研究者としての道を拓かせていただき、公私にわたり終始ご指導、ご鞭撻をいただいた大阪府立大学名誉教授 北岡正三郎先生、大阪府立大学名誉教授（現 大阪女子短期大学学長）中野長久先生、奈良先端科学技術大学院大学教授 横田明穂先生に心より感謝申し上げます。また、数々の激励と温かいご助言をいただいた近畿大学農学部（故）飯塚義富先生、（故）大西俊夫先生、光永俊郎先生、平山 修先生、さらに共同研究者として多大なご協力をいただいた大阪府立大学名誉教授 和田野 晃先生、西村勁一郎先生をはじめ多くの先生方に深謝いたします。これまでの研究を支えてくれた研究仲間（石川孝博、田茂井政宏、吉村和也、渡辺文雄、藪田行哲、丸田隆典、東田（宮川）佳子、小川貴央、田部記章、横井（西澤）彩子、三枝尚洋、武田 徹、Gaber Ahmed, Rapolu Madhusudhan, Aqib Iqbal, 村上 恵、松村浩由、足立崇、和田 啓、谷岡由梨、多淵知樹、森下輝之、石川和也、伊藤大輔、Daniel Padilla-Chacon、大鳥久美、作山治美）、大勢の修士修了生、卒業生、現在の研究室のメンバーそして家族に心から感謝します。