

環境ストレスに応じたシロイヌナズナの硫黄同化系 調節機構：カドミウム処理による硫黄動態の変化と その調節に果たす転写因子SLIM1の役割およびSLIM1 のドメイン解析

山口, 千仁

<https://hdl.handle.net/2324/1959182>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (農学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏 名： 山口千仁

論文題名： 環境ストレスに応じたシロイヌナズナの硫黄同化系調節機構：
カドミウム処理による硫黄動態の変化とその調節に果たす転写因子 SLIM1 の役割
および SLIM1 のドメイン解析

区 分： 甲

論 文 内 容 の 要 旨

硫黄は植物の生存と発達に必要な多量元素である。無機硫黄から含硫有機化合物を合成する経路を持たない動物は、有機硫黄源を植物から摂取しており、植物による硫黄同化は、生態系における硫黄循環にも重要である。植物が作る含硫化合物にはアミノ酸であるシステインやメチオニン、還元力の供給に働くグルタチオン(GSH)の他、重金属などの環境ストレス耐性に重要なものが多い。

植物は、硫黄源として土壌中の硫酸イオンを吸収する。硫酸イオンは硫酸イオン輸送体(Sulfate Transporter: SULTR)の働きにより根の細胞内に取り込まれた後、数段階の還元反応により硫化物イオンとなり、システインへと生合成される。

硫黄欠乏(-S)下では、硫黄同化が促進され、含硫二次代謝物の生合成抑制と分解促進が起こる。硫黄栄養応答欠損変異株 *sulfur limitation1(slim1)* では、-S に応じた硫黄同化系の促進が起こらず、-S 下でシステイン量や GSH 量が減じる。これらのことから、転写因子 SLIM1 は -S 応答を包括的に担う因子であると結論された。一方、SLIM1 が -S に応じて機能を発揮する機構はわかっておらず、また -S 以外で SLIM1 が働く環境条件も見つかっていない。

硫黄同化系は、重金属処理によっても促進される。しかし、カドミウム(Cd)処理下の硫黄動態や、硫黄同化系遺伝子の発現を促進する因子は不明であった。

本研究は、Cd 処理に応じた硫黄動態の変化とそれに果たす SLIM1 の役割、および SLIM1 の機能発現に必要なアミノ酸配列を特定したものである。

<カドミウム処理による地上部への硫酸イオン輸送の促進>

GSH やその重合体であるファイトケラチン(PC)は、Cd と錯体を形成することで無毒化に働く(図1)。GSH や PC はシステインを基に生合成される。Cd 処理下では硫酸イオンの吸収活性および地上部の硫酸イオン量が増加する。吸収活性の増加は主に硫酸イオン輸送体 SULTR1;2 の働きによる。地上部では総硫黄量も増加し、そのほとんどは硫酸イオンの増加による。

Cd 処理・無処理条件における総硫黄量、総硫黄に占める硫酸イオンとチオール(システイン、GSH、PC)の割合、チオール全体量に占める各チオール化合物の割合を調べた。20, 40 μM の CdCl_2 処理によ

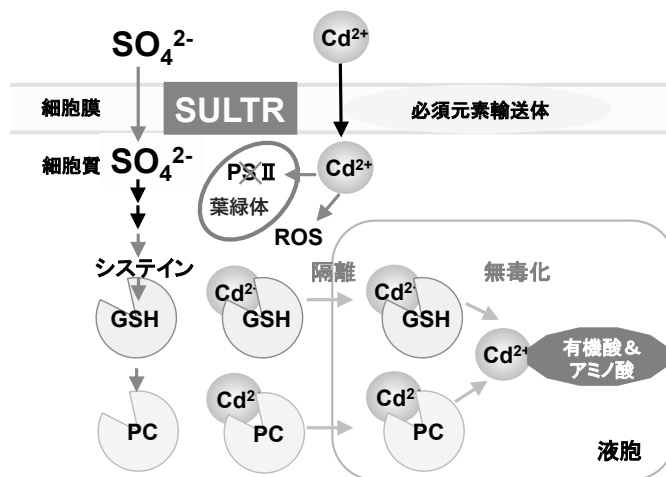


図1：低分子化合物によるカドミウムの無毒化機構

植物においてカドミウム(Cd^{2+})は光合成の阻害や活性酸素(ROS)の過剰産生を促すことにより毒性を示す。グルタチオン(GSH)やファイトケラチン(PC)などの低分子含硫化合物は Cd^{2+} と結合することでその無毒化に重要な役割を担う。 SO_4^{2-} ：硫酸イオン、SULTR：硫酸イオン輸送体、PS II：光化学系 II

り地上部では総硫黄に占める硫酸イオンとチオール割合が増加した。総硫黄に対するチオールの割合は根でも増加した。興味深いことに、PCの割合は植物体内の硫黄量に関わらず、Cd処理に応じて大きく増加した。このことは、Cd処理下ではPCの生合成と蓄積が最優先されることを示している。

次いで、Cd処理時の最も大きな変化である地上部硫酸イオン量の増加について、その機構を解析した。根から吸収された硫酸イオンは導管を經由して地上部へ輸送される。そこで導管液中の硫酸イオン濃度を測定したところ、Cd処理によって増加した(図2)。このことは、Cd処理が根から地上部への硫酸イオンの輸送を促進することを示している。

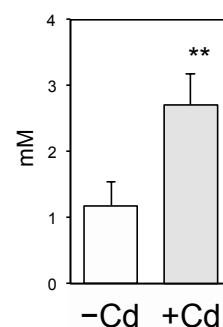


図2. 導管液中の硫酸イオン濃度
10日間育成した植物を0、20 μM のCdCl₂を含む培地に移し、3日間育成した。胚軸を切断し導管液を採取した。導管液中の硫酸イオン濃度をイオンクロマトグラフィーで測定した。
**: $p < 0.01$ (student's t-test)

<Cd処理時の硫黄同化系の促進に果たすSLIM1の役割>

*slim1*変異株を用いてCd処理下における硫黄同化の促進やCd耐性に果たすSLIM1の役割を調べた。CdCl₂処理により *slim1*変異株の地上部生重量は減少した。*slim1*変異株ではCd処理に応じた *SULTR1;2*の発現促進が起こらず、硫酸イオン吸収活性の増加も抑えられた。これらの結果は、SLIM1が-S下だけでなくCd処理下でも *SULTR1;2*の発現促進を介した硫酸イオン吸収活性の増加に働くことを意味する。また、*slim1*変異株はCd処理下で親株に比べてPC蓄積量が少なく、このことが *slim1*変異株のCd耐性を弱める要因であると考えられた。

<SLIM1の機能発現に必要なアミノ酸配列の決定>

SLIM1はEthylene Insensitive3 Like(EIL)ファミリーに属しており、EILドメインを持つ。しかし、N末端からEILドメインまで、EILドメインよりC末端側、の配列がSLIM1活性の調節に果たす役割は不明である。本研究では、C末端領域の欠失、EIL転写因子EIN3(Ethylene Insensitive3)とのドメイン置換により、*slim1*変異株の相補に必要な配列の特定を試みた。SLIM1のC末端14アミノ酸欠失体は *slim1*変異株を相補せず、SLIM1の機能発現へのC末端14アミノ酸の必要性が示された。また、SLIM1-EIN3間でN末端領域、C末端領域、EILドメインをそれぞれ置換または欠失させた配列はいずれも *slim1*変異株を相補せず、-S応答の回復にN末端領域、C末端領域の両方が必要であることが示された。