

2024 年度年次報告書
生命現象と機能性物質
2023 年度採択研究代表者

清水 隆之

奈良女子大学 研究院自然科学系
准教授

超硫黄分子で切り拓くレドックスシグナルの新展開

研究成果の概要

本研究では、分子内に過剰な硫黄原子が付加されたポリスルフィド類である「超硫黄分子」と呼ばれる新しい機能性物質について、活性酸素との協調的な転写制御機構を解明することで、新たなレドックス応答機構の提唱を目指している。

第一年次には、超硫黄分子応答性転写因子 SqrR と活性酸素応答性転写因子 OxyR による転写制御には、特異性と協調性があることを、トランスクリプトーム解析から明らかにした。さらに、SqrR と OxyR による特異的・冗長的な転写制御が確認されている 3 つの遺伝子プロモーター領域に対して、SqrR による結合解析のための実験系を確立した。

第二年次では、確立した実験系を用いて、SqrR と OxyR が超硫黄分子・活性酸素に応答して各遺伝子の転写制御を行う分子機構の解明を試みた。SqrR による解析では、活性酸素の一種である過酸化水素処理の条件検討が難航したが、超硫黄分子よりも高濃度で処理をすることで適切な処理が行えることを見出した。また、OxyR については、リコンビナントタンパク質が封入体を形成してしまったため、シャペロンを共発現させることで解決した。

さらに、細胞内で超硫黄分子・活性酸素を検知するしくみを理解するために、sqrR・oxyR 遺伝子のシステイン点変異株を作成し、超硫黄分子・活性酸素に応答した転写物量変化を解析した。その結果、システインが検知に重要であることがわかったが、興味深いことに、一部の標的遺伝子の転写制御においては、必ずしもシステインは関係ないことが明らかになった。そこで、細胞内での SqrR・OxyR のシステインの修飾状態を検出するために、チオール基修飾試薬を用いた Western blotting の実験系を立ち上げた。解析に適切な発光試薬や修飾試薬を検討し、実験系を確立した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Chen, Y., Nishimura, K., Tokizawa, M., Yamamoto, YY., Oka, Y., Matsushita, T., Hanada, K., Shirai, K., Mano, S., Shimizu, T., Masuda, T. Alternative localization of HEME OXYGENASE 1 in plant cells regulates cytosolic heme catabolism. *Plant Physiology*, **195**, 2937–2951 (2024)