

# 総説

## 植物におけるショ糖合成のキーエンザイム、 ショ糖リン酸合成酵素の機能と制御

小野清美<sup>1)</sup>・石丸健<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 北海道大学低温科学研究所, <sup>2)</sup> 農業生物資源研究所)

**要旨:** ショ糖リン酸合成酵素 (SPS) は、植物の主な転流形態であるショ糖の合成系を律速するキーエンザイムである。ショ糖合成を通じて、SPS は炭水化物の転流ひいては収量特性等の重要な形質に関与している。本総説では、組換え植物で得られた研究成果を中心として、SPS の制御機構、環境応答、生長や収量に及ぼす影響並びにゲノム解析から得られた知見に関して論じる。

**キーワード:** 高二酸化炭素濃度、収量、ショ糖、ショ糖リン酸合成酵素、生長、転流、リン酸化。

ショ糖リン酸合成酵素 (sucrose-phosphate synthase, SPS, EC 2.4.1.14) は、植物の葉におけるショ糖合成系のキーエンザイムである。ショ糖合成は作物の生長並びに物質生産に直結するため、農学的な観点からも SPS の持つ重要性は非常に高い。80 年代初頭から SPS の制御機構、環境変化に対する応答並びにその生長、物質生産に及ぼす影響に関して研究が進められてきた。加えて近年、複数の植物種において SPS 遺伝子を導入した組換え体が作出され、SPS の持つ機能が多面的に明らかにされてきた。本総説では、組換え体を用いた研究を中心として、SPS の制御機構、環境応答並びに作物の生長や収量に及ぼす作用並びにゲノム研究の進展により得られた新たな知見を論じる。総説を通して、SPS に関して現在まで得られている知見を整理し、今後進んでいくべき研究の方向性を示したい。

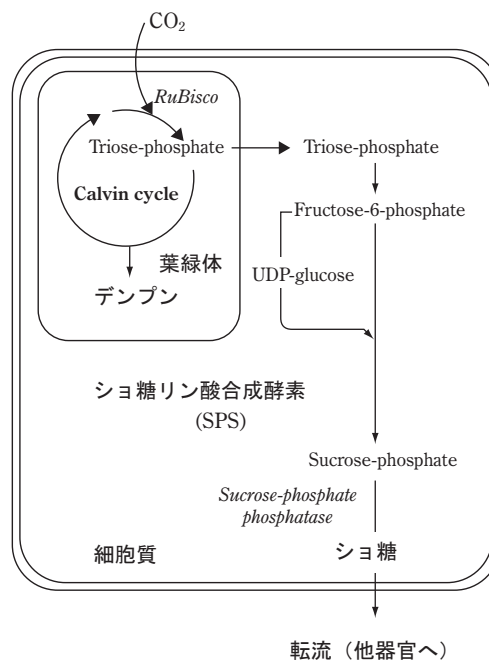
### 1. SPS の機能と光合成産物の分配、蓄積に及ぼす影響

ショ糖は、植物における光合成産物転流の主要な輸送形態である。ルビスコ (リブロース 1, 5-ビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ; RuBisCo, EC 4.1.1.39) により同化された光合成産物はトリオースリン酸として細胞質に輸送される。SPS は細胞質に存在し、UDP グルコースとフルクトース 6 リン酸からショ糖リン酸を合成する。合成されたショ糖リン酸から、ショ糖リン酸フォスファターゼ (sucrose-phosphate phosphatase, SPP, EC 3.1.3.24) により、最終的にショ糖が合成される (第 1 図)。80 年代に行われた生化学研究により、SPS がショ糖合成系全体を律速するキーエンザイムであると考えられてきた (Huber 1983)。

植物は葉に一時的に炭水化物を蓄積するが、蓄積する炭水化物の種類は植物の種類により異なる。トマト (*Lycopersicon esculentum*; Galtier ら 1993, 1995, Worrell ら 1991, Micallef ら 1995), シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*; Signora ら 1998) やジャガイモ (*Solanum tuberosum*;

Tobias ら 1999) は、葉に主にデンプンを蓄積 (デンプン蓄積型) する。一方、イネ (*Oryza sativa*) は貧栄養、高 CO<sub>2</sub> 濃度下ではデンプンの蓄積が多くなることもあるものの (Nakano ら 1997), 葉身にはショ糖を主に蓄積する。トウモロコシ (*Zea mays*) では、明期の終わりにデンプンの蓄積が見られるが、光合成で固定された炭素はショ糖により多く分配されている (Lunn and Hatch 1995) (ショ糖蓄積型)。

ショ糖は炭水化物の転流形態であることから、葉組織に含まれるショ糖/デンプン含量比は、(すでに転流されているショ糖があるため過小評価する可能性もあるが) 光合成産物の転流と蓄積における分配の指標 (転流/蓄積比) と見なすことができる。Galtier ら (1993, 1995) は、トマトにおいてショ糖/デンプン比と SPS 活性の間に高い正の



第 1 図 植物のショ糖合成経路。

相関があることを見出した。また、SPS 活性とデンプン含量とは負の相関 ( $r = -0.71$ ) があることがダイズ (*Glycine max* L.) を用いた研究により報告されている (Huber and Israel 1982)。これらの結果から、SPS 活性の高さが、少なくともトマト等の植物では光合成産物の転流への分配を決定する要因であると考えられた。

「SPS 遺伝子を導入し活性を増加させることで、転流への炭水化物分配を高めることができるのではないか？」という作業仮説に基づき、デンプン蓄積型のトマト (Galtier ら 1993, 1995, Micallef ら 1995)、シロイヌナズナ (Signora ら 1998)、ジャガイモ (Tobia ら 1999) において組換え体が作出された。組換えトマトでは、SPS 遺伝子を導入していないコントロールに比べて、ショ糖/デンプン比は、ばらつきがあるものの2倍以上 (高いものでは5倍以上) に増加していた (Galtier ら 1993)。

ショ糖蓄積型植物では、サトウキビ (*Saccharum* spp.) 8品種の比較から、SPS 活性と葉のショ糖含量に有意な正の相関があることが報告されている (Grof ら 1998)。しかしながら、ショ糖蓄積型植物において SPS 遺伝子の導入による活性の上昇が、デンプン蓄積型植物と同様の作用を持つのか、言い換えれば、「本来ショ糖を多く蓄積する植物種においても、ショ糖合成能を高めることが転流特性に影響を及ぼすのか」明らかではなかった。Ono ら (1999a) は、ショ糖蓄積型のイネ (cv. 日本晴) にトウモロコシの SPS 遺伝子を過剰発現させた組換えイネを作出し解析を行っ

た。その結果、SPS 遺伝子を導入していないコントロールと SPS 活性の異なる組換えイネの系統間で、SPS 活性と葉組織に含まれるデンプン量に負の相関が、ショ糖/デンプン比には正の相関があった (Ono ら 1999a, 第2図)。一方で、ショ糖/デンプン比は最も高い系統でもコントロールの約1.7倍であり、トマトのようなデンプン蓄積型の組換え植物で報告された結果に比較すると小さかった。これらの結果により、ショ糖蓄積型の植物においても SPS が光合成産物の分配に影響を及ぼすことが明らかになった。加えて、SPS の光合成産物の分配への効果は植物の蓄積する炭水化物の種類 (デンプン蓄積型かショ糖蓄積型か) により異なるものと考えられた。

## 2. SPS 活性の制御

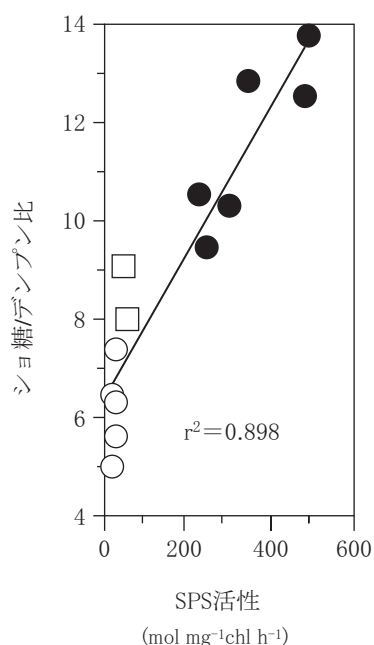
SPS 活性はグルコース 6 リン酸と無機リン酸により活性制御を受ける。前者は活性化物質、後者は阻害物質である (Doehlert and Huber 1983, 1984, 1985)。このようなアロステリック制御に加えて、明暗、浸透圧ストレス及び 14-3-3 タンパク質の結合により、複数のセリン残基がリン酸化されることで活性が制御される (Winter and Huber 2000)。

### (1) 明暗による活性制御

オオムギ (*Hordeum vulgare* L.)、トウモロコシ、イネ、ホウレンソウ (*Spinacia oleracea* L.) 並びにサトウダイコン (*Beta vulgaris* L.) において、SPS は光により活性化される。一方、ダイズ、タバコ (*Nicotiana tabacum* L.)、エンドウ (*Pisum sativum* L.)、シロイヌナズナ、キュウリ (*Cucumis sativum* L.)、メロン (*Cucumis melo* L.) では光による活性化は見られない (Huber ら 1989)。このような光による SPS の活性制御は、SPS のセリン残基 (ホウレンソウのアミノ酸 158 番目のセリン、トウモロコシでは 162 番目) が SPS キナーゼにより暗所でリン酸化され、活性が低下することに起因する (Huber ら 1995)。Toroser ら (1999) はホウレンソウの無改変 SPS (コントロール) とその 158 番目のセリンをアラニン、スレオニン、グルタミン酸に変換した SPS をそれぞれ導入した組換えタバコを比較し、調節機構を解析した。コントロールとスレオニンに変換した組換え体では、SPS 活性の明暗による調節が見られたが、アラニンに変換した組換え体では暗所でも不活性化しなかった。グルタミン酸に変換した組換え体では本来活性化すべき明所でも活性化が起こらなかった。以上の結果からホウレンソウでは 158 番目のセリンが明暗におけるリン酸化による制御部位であり、この部分に負のチャージがあることが制御において重要であることが示された。

### (2) 浸透圧ストレスによる活性制御

水欠乏や塩ストレスのような浸透圧ストレス下では、植物は細胞の水分を保持するために、プロリン、グリシンベタインのような適合溶質を合成し細胞の浸透ポテンシャル



第2図 トウモロコシの SPS 遺伝子を導入した組換えイネとコントロール (日本晴) における、SPS 活性とショ糖/デンプン比の相関 (Ono ら 1999 から引用)。

●: 組換えイネ, ○: コサプレッションにより SPS タンパク質含量並びに活性が低下した組換えイネ, □: コントロール。

を下げる (Rhodes and Hanson 1993 など). 水ストレス条件下ではショ糖への光合成産物の分配が多くなるが、これには SPS の活性化が寄与していると考えられている (Quick ら 1989, Zrenner and Stitt 1991, Reimholz ら 1994). Geigerberger ら (1999) は SPS 遺伝子のアンチセンス導入やコサプレッションにより SPS の活性がコントロールの 20~30% にまで低下した組換えジャガイモを用いて、水ストレス時の光合成産物分配の変化に対する SPS の影響を解析した. 光と水が十分与えられた条件では、コントロールと組換え体間で塊茎に含まれるショ糖量やデンプン量には差異は見られなかった. マンニトールにより浸透圧ストレスを与えると、コントロールの塊茎の薄片ではショ糖合成が促進されデンプン合成が抑えられたが、SPS 活性が低下した組換え体ではそのような変化は見られなかった. また、水供給が抑えられるとコントロールのジャガイモでは塊茎への乾物の分配が増加したが、組換えジャガイモでは同様の変化は見られなかった. SPS 活性が抑えられていると水ストレスを受けたときに必要な応答が起こらないことから、SPS は水ストレス応答に重要な役割を果たしていると考えられる.

明暗調節による SPS の活性制御部位が、浸透圧ストレスにおいても同様に調節に関わっているのか明らかにするために、Huber ら (1993) は、ホウレンソウの葉で  $^{32}\text{P}$  を用いてラベル実験を行った. その結果、浸透圧ストレスを受けた葉では全体の  $^{32}\text{P}$  ラベルと明暗調節に関わる 158 番目のセリンの  $^{32}\text{P}$  ラベルがわずかに増加していた. 浸透圧ストレス時には SPS は活性化するが、明暗調節に関わるセリンがリン酸化されると SPS は不活性化する. したがって、158 番目のセリンの挙動だけでは浸透圧ストレス時の SPS 活性の増加は説明できない. Toroser and Huber (1997) は、暗所で浸透圧ストレスを受けたホウレンソウの葉での SPS 活性の増加には少なくとも一部は 424 番目のセリンのリン酸化に関わっており、カルシウム依存のプロテインキナーゼにより触媒されていることを報告している.

### (3) 14-3-3 タンパク質による活性制御

14-3-3 タンパク質は、牛の脳に多量にある酸性の可溶性タンパク質として同定され、機能の分からないタンパク質として分画の過程でこの名称が付けられた. 現在、14-3-3 タンパク質はターゲットとするタンパク質のポリペプチドのモチーフを認識して結合することで、様々なタンパク質との相互作用を持ち、イオンチャネル、窒素同化、炭素代謝など多くの生命現象に関わっていることが明らかにされている (Comparot ら 2003). 14-3-3 タンパク質遺伝子は、シロイヌナズナ、オオムギ、トウモロコシ、ホウレンソウ、タバコ、ジャガイモ、トマトを含む多くの植物種から単離されている. 14-3-3 タンパク質は、ホウレンソウ SPS の 229 番目セリンに結合し、活性を阻害する (Toroser ら 1998). Moorhead ら (1999) はシロイヌナズナを用いて

14-3-3 タンパク質が SPS 活性に及ぼす影響を解析した. フォスフォペプチドを加えて、14-3-3 タンパク質の結合に際して SPS やトレハロース 6 リン酸合成酵素といった糖リン酸合成酵素と競合させた. その結果、材料による程度の差はあるものの糖リン酸合成酵素の活性は 5~10% あるいは 30~40% 阻害された. 14-3-3 タンパク質に結合するフォスフォペプチドによる、糖リン酸合成酵素の活性の阻害は酵母の 14-3-3 タンパク質を加えることにより回復した. 14-3-3 タンパク質の SPS 活性調節機能に関して、Toroser ら (1998) と Moorhead ら (1999) の研究結果は矛盾しているように感じられる. しかし、Moorhead ら (1999) の研究では、14-3-3 タンパク質の影響を SPS 活性単独ではなく、糖リン酸合成酵素全体として測定しているので、実験に用いた糖リン酸合成酵素であるトレハロース 6 リン酸合成酵素が糖リン酸合成酵素全体の活性を増加させた可能性も否定できない.

### (4) 組換え体における過剰発現 SPS の制御

SPS 遺伝子を導入した組換え体において、SPS の最大活性 ( $V_{\max}$ ) の増加に伴い、基質である UDP グルコースに対する親和性の低下 ( $K_m$  値の増加)、並びに活性化率 (基質制限条件下の活性の最大活性に対する比率) の低下という問題が生じてきた (Galtier ら 1995, Toroser ら 1999). Ono ら (1999a) は、トウモロコシの SPS 遺伝子を導入した組換えイネにおいて、SPS タンパク質量の増加に伴い不活性な SPS の割合が増加する同様の結果を得た. 遺伝子導入により人工的に過剰に作出された SPS の制御機構を明らかにするために、Takahashi ら (2000) は明暗調節部位であるアミノ酸 162 番目のセリンをアラニンに改変したトウモロコシ SPS 遺伝子をイネに導入した. アラニンに改変した SPS を導入した組換えイネでは、SPS の UDP グルコースに対する親和性は無改変のトウモロコシ SPS 遺伝子を導入した組換え体よりも高い値を示した. また、UDP グルコースに対する親和性に明暗による変化は認められなかった. これはリン酸化されるべきセリンがアラニンに改変され負のチャージを持たず、暗所でリン酸化が起きないためと考えられる. これらの結果から、トウモロコシの SPS のアミノ酸 162 番目のセリンは、報告されている明暗の変化に加えて、組換え体における過剰 SPS タンパク質の不活性化にも関与していることが明らかになった.

## 3. SPS と植物の生長

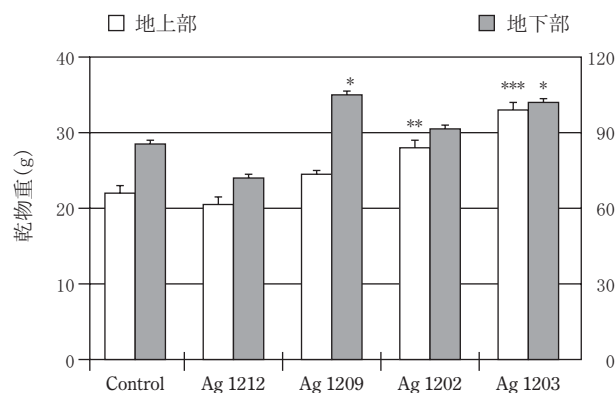
ショ糖は主要な転流形態であり、栄養生長期にはシンク器官に運ばれ生長に利用される. そのため、早くから SPS のショ糖合成を通じた生長への影響が研究された. Rocher ら (1989) は、生長速度が異なるトウモロコシの genotype 8 種を用い、炭素代謝のキーエンザイムの活性と生長速度を比較した. その結果、SPS 活性が生長速度に対して高い正の相関があることを明らかにした. Seneweera ら (1995)

は、イネ (cv Jarrah) の初期生長において SPS 活性と葉身の伸長速度間に正の相関があることを報告している。浮きイネは浸水すると節間が著しく伸長する。Hirano ら (1997) は、 $^{13}\text{C}$  でラベルした光合成産物の輸送速度が浸水したイネでは浸水していないイネに比べて非常に速く、基質が制限され無機リン酸存在下における SPS 活性 ( $V_{\text{limiting}}$  活性、生体内での SPS 活性を反映すると考えられている) と輸送速度との間に正の相関があることを報告している。

近年、イネの第一染色体上に見出した草丈を増加させる量的形質遺伝子座 (QTL) が SPS 遺伝子 (*OsSPS1*) と一致することが明らかにされた (Ishimaru ら 2004)。この QTL が SPS であることは、SPS 遺伝子を導入し活性を増加させた組換えイネで、コントロールイネよりも草丈が有意に増加することにより証明された。これは、ジベレリン関係以外で草丈を制御する遺伝子として単離された初めての報告である。牧草では、生長量が生産量に直結するため、SPS はイネ科牧草等の生産性の向上に利用可能であると考えられる。

#### 4. SPS が作物の収量特性に及ぼす影響

SPS が生理学、作物学のみならず育種の現場においても注目され、多くの研究が行われた最大の理由は、SPS が収量に関与すると考えられていたからである。90 年代の半ばからトウモロコシ、トマト、ジャガイモへの SPS 遺伝子の導入が進められた。組換えトマトでは、種子の乾燥重量の増加が報告されている (Micallef ら 1995)。Tobias ら (1999) は、トウモロコシ SPS 遺伝子をカリフラワーモザイクウイルス由来の 35S プロモーター下で過剰発現させ、SPS 活性の増加がジャガイモの収量特性に及ぼす影響を解析した。その結果、ポット栽培ではあるがコントロールに比べ、最大で地上部 (葉と茎) 15%、地下部 (塊茎、根) を 20% 増加させることに成功した (第 3 図)。ルビスコの小サブユ



第 3 図 トウモロコシの SPS 遺伝子を導入した組換えジャガイモ (Ag1202, 1203, 1209, 1212) とコントロール (メークイン) の地上部 (葉+茎) 並びに地下部 (塊茎) 乾物重の比較 (Tobias ら 1999 から引用)。

\*\*\*: 0.1%, \*\*: 1%, \*: 5% 有意。

ニット (*rbcS*) のプロモーターにトウモロコシの SPS 遺伝子をつなげて過剰発現させた組換えトマトでは、チャンバーを用いたポット栽培で果実の数がコントロールの 1.5 倍になり、果実の全乾燥重量は 32% 増加した (Micallef ら 1995)。

圃場レベルではどうであろうか? Micallef ら (1995) のオープントップチャンバーを用いた実験では、トマト果実の乾燥重量に差異は見られず、圃場栽培実験では果実の生重がコントロールに比べて顕著に低いか、もしくは変わらなかった。Laporte ら (1997) はカリフラワーモザイクウイルス由来の 35S プロモーターを用いてトウモロコシの SPS をトマトに過剰発現させた。その組換えトマトの 1 系統で、果実の生重がコントロールの 182% に増加し、野外圃場実験ではコントロールの 120~130% に増加するという、Micallef ら (1995) と相反する結果を得た。彼らは、この差異の原因が組換えの世代と生育条件であると推測し、*rbcS* と 35S プロモーターで SPS 活性が増加した組換えトマトを用いてさらに解析を行った。その結果、プロモーターの種類に関係なく、最適の SPS 活性が存在し、それはコントロールの 2 倍であることが明らかになった (Laporte ら 2001)。

#### 5. SPS が窒素の転流に及ぼす影響

登熟期のイネでは窒素の吸収は少なく、葉や茎に蓄積された窒素が発達中の穂への主要な供給源となっている。穂のような新しい器官が発達するときには、炭素と窒素の両方が必要となる。上述のように SPS 活性は収量に影響することから、「SPS 活性の変化が穂の生長への影響を通じて止葉からの窒素の回収 (葉の老化) に変化をもたらすのではないか」という仮説が立てられる。Ono ら (1999b) は、コントロールのおよそ半分の SPS 活性を示す組換えイネ (低 SPS イネ) を窒素供給二段階 (1.0mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  標準窒素区, 0.1mM  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  低窒素区) で水耕栽培し、解析を行った。その結果、低窒素区と標準窒素区の両方で、低 SPS イネの穂重はコントロールに比べて有意に低くなっていた。また低窒素区における、低 SPS イネの止葉のクロロフィル含量と可溶性タンパク質量の経時的な減少はコントロールに比べ抑えられていた。クロロフィルと可溶性タンパク質含量の減少は老化の指標 (Thimann 1980) であることから、SPS 活性を減少させることによりシンクである生殖器官 (穂) の発達が抑えられ、止葉からの窒素の再利用並びに老化が抑えられたと考えられた。この結果は、SPS 活性が炭水化物の転流のみならず、シンク器官の発達を通じて間接的に窒素の転流に影響を及ぼすことを示唆している。

#### 6. 高二酸化炭素に対する SPS の応答

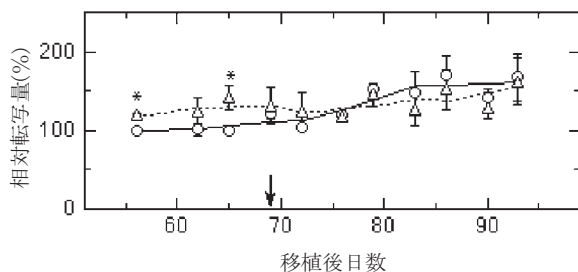
大気中の  $\text{CO}_2$  濃度は 360 ppm 程度であるが、今世紀末には倍加すると予測されている。 $\text{CO}_2$  は光合成の基質である

ため、当初高  $\text{CO}_2$  濃度下では光合成速度が増加すると考えられた。しかし予想に反して、いくつかの植物種で光合成速度の低下及び葉組織における光合成産物の過剰な蓄積が報告された (Sasek ら 1985, Peet ら 1986, Yelle ら 1989, Wong 1990, Xu ら 1994, Nakano ら 1997)。Seneweera ら (1995) 並びに Hussain ら (1999) は高  $\text{CO}_2$  濃度下でイネの SPS 活性が増加することを報告している。Seneweera ら (1995) は、栄養生長初期には、高  $\text{CO}_2$  濃度下において、葉身の伸長速度と  $V_{\text{limiting}}$  SPS 活性が増加すること、この活性の増加は SPS の活性化状態の増加によることを示した。さらに分けつが大きなシンクとなるより後期には、 $V_{\text{limiting}}$  と最大活性の両方が高  $\text{CO}_2$  下で増加することを示した。また、Hussain ら (1999) のイネ (cv. IR-30) の場合でも高  $\text{CO}_2$  濃度下で葉の SPS 活性の増加が見られ、 $V_{\text{limiting}}$  SPS 活性と最大 SPS 活性はそれぞれ 20% と 12% 増加していた。

Aoki ら (2003) は、イネ (cv. あきたこまち) の止葉を用いて、高  $\text{CO}_2$  濃度が炭素代謝に及ぼす影響が、糖代謝が劇的に切りかわる出穂前後でどの様に変化するか解析した。出穂前には高  $\text{CO}_2$  濃度下で、止葉にデンプンが多く蓄積したが、出穂後には高  $\text{CO}_2$  濃度下でも大気中の  $\text{CO}_2$  濃度下でもデンプンはほとんどなくなっていた。出穂前の SPS 遺伝子の転写産物量は、高  $\text{CO}_2$  濃度下で高くなっていたが、出穂後には  $\text{CO}_2$  濃度による差異は見られなかった (第 4 図)。これらの結果は、高  $\text{CO}_2$  濃度下の SPS 活性増加は遺伝子の転写レベルで制御されていること、並びにデンプンの蓄積が変わる出穂前後で SPS 遺伝子の転写産物量に対する影響が異なることを示唆している。Isopp ら (2000) は、FACE (Free Air  $\text{CO}_2$  Enrichment; 開放系大気  $\text{CO}_2$  増加システム, 小林 2001 参照) を用い、ペレニアルライグラス (*Lolium perenne* cv. Bastion) の同化産物の流れの変化に SPS がどのように応答するのか解析した。その結果、SPS タンパク質量は施肥により増加したが  $\text{CO}_2$  濃度には影響されなかった。SPS タンパク質量は遊離アミノ酸量と正の相関、ショ糖/遊離アミノ酸比とは負の相関が見られ、少なくと

もペレニアルライグラスでは、窒素供給に依存したシンクソース関係により SPS 量が制御されていると考えられた。

トウモロコシの SPS 遺伝子を過剰発現させた組換えシロイヌナズナ (Signora ら 1998)、トマト (Murchie ら 1999) 及びイネ (Ono ら 2003) を用いて、SPS の高  $\text{CO}_2$  濃度下における炭素代謝への影響が解析された。大気  $\text{CO}_2$  濃度条件下では、炭水化物輸送速度はコントロールと組換えトマト間でほとんど差異が見られなかった (Galtier ら 1995)。高  $\text{CO}_2$  濃度下でも光合成速度には変化がなく、炭水化物の輸送にもわずかな差異しか見られなかった (Murchie ら 1999)。組換えシロイヌナズナでは、大気  $\text{CO}_2$  濃度下で差異が見られなかったが、高  $\text{CO}_2$  処理 10 週間後にコントロールでは光合成活性が低下したものの、組換え体では低下が見られなかった (Signora ら 1998)。Ono ら (2003) は、SPS 最大活性がコントロールの 12.5 倍に増加した組換えイネを用いて、高  $\text{CO}_2$  濃度条件下で SPS 活性増加が炭水化物代謝に及ぼす影響を解析した。その結果、SPS 活性の増加によりコントロールに比べてデンプンの蓄積が抑えられ、炭素の輸送速度が高くなるという結果を得た。これらの結果から、高  $\text{CO}_2$  濃度下では SPS 遺伝子の過剰の効果が、デンプン蓄積型植物 (トマトやシロイヌナズナ) とショ糖蓄積型植物 (イネ) で異なると考えられた。デンプン蓄積型植物はデンプンを葉組織に蓄積するため、同化産物の輸送能力はあまり高くないと考えられる。そのため高二酸化炭素濃度のような過剰にデンプンが蓄積する条件では SPS 活性を増加させ転流形態であるショ糖に変化させても、もともとの植物種が持っている同化産物の輸送能力を上回ってしまい、輸送が律速されるのではないかと推測される。ショ糖の輸送に関与するショ糖トランスポーター遺伝子を導入した組換え植物は既に作出されている (例; Ishimaru ら 2001, Scofield ら 2002)。今後、SPS とショ糖の輸送に関与する両方の遺伝子が導入された組換え植物の作出並びに高二酸化炭素条件における転流能力を解析することで、この条件下で転流を制御する機構を明らかにすることができると考えられる。



第4図 高  $\text{CO}_2$  濃度 (650 ppm) 並びに大気  $\text{CO}_2$  濃度 (350 ppm) で栽培したイネの出穂前後における SPS 遺伝子の転写産物量の比較 (Aoki ら 2003 から引用)。  
大気  $\text{CO}_2$  濃度で栽培したイネの移植後 55 日目の転写産物量に対する相対値 (%) として示す。△: 高  $\text{CO}_2$  濃度、○: 大気  $\text{CO}_2$  濃度。矢印: 出穂日, \*: 5% 有意。

## 7. SPS と SPP (sucrose-phosphate phosphatase)

SPS は、タンパク質の精製に伴い活性が低下する (Salvucci ら 1990, Salerno ら 1991)。そのため、SPS を安定化し、活性化する因子の存在が強く示唆されていた。Salerno ら (1996) の研究により、SPP が SPS の活性に関与するのではないかと考えられていた。Echeverria ら (1997) は、UDP グルコースのような SPS の基質があるときには、SPP の添加により SPS 活性が活性化されること、変性させないポリアクリルアミドゲル電気泳動では SPS 活性がある部分とともに SPP が移動することを示し、SPS と SPP が酵素複合体を形成していることを示す結果を報告した。2000 年にトウモロコシから SPP 遺伝子が初めて単離された。SPP の遺伝子配列には SPS と類似した部分があり、遺伝子の構

造からも SPP と SPS が結合している可能性が高いと考えられている (Lunn ら 2000, Lunn and MacRae 2003)。しかしながら、依然として SPP と SPS 間の制御機構に不明な点が多く残されている。

## 8. SPS 遺伝子ファミリー

91 年にトウモロコシ (Worrel ら 1991), その 2 年後にホウレンソウ (Klein ら 1993, Sonnewald ら 1993) から SPS 遺伝子が単離された。現在では、ランソウ (Lunn ら 1999), 双子葉植物 (Langekamper ら 2002), 単子葉植物 (Castleden ら 2004) の 20 種以上からクローニングされている。当初 SPS 遺伝子はその配列比較から 3 つ (A, B, C) のファミリーに分類されていた。Lunn らのグループは、ゲノム研究の成果を用いてトウモロコシ、イネ、サトウキビ、ソルガム (*Sorghum bicolor*) の EST (expressed sequence tag; 網羅的に収集された発現遺伝子の塩基配列) を解析し、双子葉植物の A-C のファミリーに 2 つのサブファミリーを含む新しい D ファミリーを加え、計 4 ファミリーに分類した (Lunn and MacRae 2003)。D ファミリーの SPS タンパク質は他のファミリーに含まれる SPS に比べ小さく、14-3-3 タンパク質結合部位 (Ser-229) と浸透圧ストレスによる活性化に関与する部位 (Ser-424) を欠失している。D タイプの SPS は双子葉植物と単子葉植物の分岐した後に現れ、倍化して 2 つのサブファミリーになったと考えられている (Castleden ら 2004)。

## ま と め

以上論じてきたように、SPS に関して多くの研究が行われ膨大な情報が蓄積している。また、SPS 遺伝子の導入による収量特性の改良は実用可能なレベルに到達しており、圃場レベルでジャガイモの収量増加を示す結果を得ている (石丸ら未発表)。一方で、SPS の各アイソフォームの酵素的性質や SPS と SPP 間の制御機構など未解明な部分が多く残されているのも事実である。ショ糖合成系を制御し、収量特性を飛躍的に向上させるために、SPS のさらなる解析が必要であると考えられる。

## 引用文献

- Aoki, N., K. Ono, H. Sasaki, S.P. Seneweera, H. Sakai, K. Kobayashi and K. Ishimaru 2003. Effects of elevated CO<sub>2</sub> concentration on photosynthetic carbon metabolism in flag-leaf blades of rice before and after heading. *Plant Prod. Sci.* 6 : 52–58.
- Castleden, C. K., N. Aoki, V. J. Gillespie, E. A. MacRae, W. P. Quick, P. Buchner, C. H. Foyer, R. T. Furbank and J. E. Lunn 2004. Evolution and function of the sucrose-phosphate synthase gene families in wheat and other grasses. *Plant Physiol.* 135 : 1753–1764.
- Comparot, S., G. Lingiah and T. Martin 2003. Function and specificity of 14-3-3 proteins in the regulation of carbohydrate and nitrogen metabolism. *J. Exp. Bot.* 54 : 595–604.
- Doehlert, D. C. and S. C. Huber 1983. Regulation of spinach leaf sucrose

- phosphate synthase by glucose-6-phosphate, inorganic phosphate, and pH. *Plant Physiol.* 73 : 989–994.
- Doehlert, D. C. and S. C. Huber 1984. Phosphate inhibition of spinach leaf sucrose phosphate synthase as affected by glucose-6-phosphate and phosphoglucosomerase. *Plant Physiol.* 76 : 250–253.
- Doehlert, D. C. and S. C. Huber 1985. The role of sulfhydryl-groups in the regulation of spinach leaf sucrose phosphate synthase. *Biochim. Biophys. Acta.* 830 : 267–273.
- Echeverria, Ed., M. E. Salvucci, P. Gonzalez, G. Paris and G. Salerno 1997. Physical and kinetic evidence for an association between sucrose-phosphate synthase and sucrose-phosphate phosphatase. *Plant Physiol.* 115 : 223–227.
- Galtier, N., C. H. Foyer, J. Huber, T. A. Voelker and S. C. Huber 1993. Effects of elevated sucrose-phosphate synthase activity on photosynthesis, assimilate partitioning, and growth in tomato (*Lycopersicon esculentum* var UC82B). *Plant Physiol.* 101 : 535–543.
- Galtier, N., C. H. Foyer, E. Murchie, R. Alred, P. Quick, T. A. Voelker, C. Thepenier, G. Lasceve and T. Betshe 1995. Effects of light and atmospheric carbon dioxide enrichment on photosynthesis and carbon partitioning in the leaves of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) plants over-expressing sucrose phosphate synthase. *J. Exp. Bot.* 46 : 1335–1344.
- Geigenberger, P., R. Reimholz, U. Deiting, U. Sonnewald and M. Stitt 1999. Decreased expression of sucrose phosphate synthase strongly inhibits the water stress-induced synthesis of sucrose in growing potato tubers. *Plant J.* 19 : 119–129.
- Grof, C. O. L., D. P. Knight, S. D. McNeil, J. E. Lunn and J. A. Campbell 1998. A modified assay method shows leaf sucrose-phosphate synthase activity is correlated with leaf sucrose content across a range of sugarcane varieties. *Aust. J. Plant Physiol.* 25 : 499–502.
- Hirano, T., N. Uchida, T. Azuma and T. Yasuda 1997. Relationship between export rate of photoassimilates and activation state of sucrose phosphate synthase in submerged floating rice. *Jpn. J. Crop. Sci.* 66 : 675–681.
- Huber, S. C. and D. W. Israel 1982. Biochemical basis for partitioning of photosynthetically fixed carbon between starch and sucrose in soybean (*Glycine max* Merr.) leaves. *Plant Physiol.* 69 : 691–696.
- Huber, S. C. 1983. Role of sucrose-phosphate synthase in partitioning of carbon in leaves. *Plant Physiol.* 71 : 818–821.
- Huber, S. C., T. H. Nielsen, J. L. Huber and D. M. Pharr 1989. Variation among species in light activation of sucrose-phosphate synthase. *Plant Cell Physiol.* 30 : 277–285.
- Huber, S. C., J. L. A. Huber and R. W. Jr. McMichael 1993. Carbon partitioning within and between organisms. C. J. Pollock, J. F. Farrar and A. J. Gordon eds., Oxford University Press, Oxford. 1–26.
- Huber, S. C., R. W. Jr. McMichael, J. L. Huber, M. Bachmann, Y. T. Yamamoto and M. A. Conkling 1995. Carbon partitioning and source-sink interaction in plants. Madore, M. A. and W. J. Lucas, eds., The American Society of Plant Physiologists, Rockville. 35.
- Hussain, M. W., L. Jr. Hartwell Allen and G. Bowes 1999. Up-regulation of sucrose phosphate synthase in rice grown under elevated CO<sub>2</sub> and temperature. *Photosynth. Res.* 60 : 199–208.
- Ishimaru, K., T. Hirose, N. Aoki, S. Takahashi, K. Ono, S. Yamamoto, J. Wu, S. Saji, T. Baba, M. Ugaki, T. Matsumoto and R. Ohsugi 2001.

- Antisense expression of a rice sucrose transporter OsSUT1 in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Cell Physiol.* 42 : 1181–1185.
- Ishimaru, K., K. Ono and T. Kashiwagi 2004. Identification of a new gene controlling plant height in rice using the candidate-gene strategy. *Planta* 218 : 388–395.
- Isopp, H., M. Frehner, S. P. Long and J. Nösberger 2000. Sucrose-phosphate synthase responds differently to source-sink relations and to photosynthetic rates: *Lolium perenne* L. growing at elevated  $p_{CO_2}$  in the field. *Plant Cell Environ.* 23 : 597–607.
- Klein, R. R., S. J. Crafts-Brandner and M. E. Salvucci 1993. Cloning and developmental expression of the sucrose-phosphate-synthase gene from spinach. *Planta* 190 : 498–510.
- 小林和彦 2001. FACE (開放系大気  $CO_2$  増加) 実験, 日作紀 70 : 1–16.
- Langenkämper, G., R. W. M. Fung, R. D. Newcomb, R. G. Atkinson, R. C. Gardner and E. A. MacRae 2002. Sucrose phosphate synthase genes in plants belong to three different families. *J. Mol. Evol.* 54 : 322–332.
- Laporte, M. M., J. A. Galagan, J. A. Shapiro, M. R. Boersig, C. K. Shewmaker and T. D. Sharkey 1997. Sucrose-phosphate synthase activity and yield analysis of tomato plants transformed with maize sucrose-phosphate synthase. *Planta* 203 : 253–259.
- Laporte, M. M., J. A. Galagan, A. L. Prash, P. J. Vanderveer, D. T. Hanson, C. K. Shewmaker and T. D. Sharkey 2001. Promoter strength and tissue specificity effects on growth of tomato plants transformed with maize sucrose-phosphate synthase. *Planta* 212 : 817–822.
- Lunn, J. E. and M. D. Hatch 1995. Primary partitioning and storage of photosynthate in sucrose and starch in leaves of  $C_4$  plants. *Planta* 197 : 385–391.
- Lunn, J. E., G. D. Price and R. T. Furbank 1999. Cloning and expression of a prokaryotic sucrose-phosphate synthase gene from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. *Plant Mol. Biol.* 40 : 297–305.
- Lunn, J. E., A. R. Ashton, M. D. Hatch and H. W. Heldt 2000. Purification, molecular cloning, and sequence analysis of sucrose-6<sup>P</sup>-phosphate phosphohydrolase from plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 : 12914–12919.
- Lunn, J. E., and E. MacRae 2003. New complexities in the synthesis of sucrose. *Curr. Opin. Plant Biol.* 6 : 208–214.
- Micallef, B. J., K. A. Haskins, P. J. Vanderveer, K.-S. Roh, C. K. Shewmaker and T. D. Sharkey 1995. Altered photosynthesis, flowering, and fruiting in transgenic tomato plants that have an increased capacity for sucrose synthesis. *Planta* 196 : 327–334.
- Moorhead, G., P. Douglas, V. Cotellet, J. Harthill, N. Morrice, S. Meek, U. Deiting, M. Stitt, M. Scarabel, A. Aitken and C. MacKintosh 1999. Phosphorylation-dependent interactions between enzymes of plant metabolism and 14-3-3 proteins. *Plant J.* 18 : 1–12.
- Murchie, E. H., C. Sarrobert, P. Contard, T. Betsche, C. H. Foyer and N. Galtier 1999. Overexpression of sucrose-phosphate synthase in tomato plants grown with  $CO_2$  enrichment leads to decreased foliar carbohydrate accumulation relative to untransformed controls. *Plant Physiol. Biochem.* 37 : 251–260.
- Nakano, H., A. Makino and T. Mae 1997. The effect of elevated partial pressures of  $CO_2$  on the relationship between photosynthetic capacity and N content in rice leaves. *Plant Physiol.* 115 : 191–198.
- Ono, K., K. Ishimaru, N. Aoki, S. Takahashi, K. Ozawa, Y. Ohkawa and R. Ohsugi 1999a. Characterization of a maize sucrose-phosphate synthase protein and its effects on carbon partitioning in transgenic rice plants. *Plant Prod. Sci.* 2 : 172–177.
- Ono, K., K. Ishimaru, N. Aoki and R. Ohsugi 1999b. Transgenic rice with low sucrose-phosphate synthase activities retain more soluble protein and chlorophyll during flag leaf senescence. *Plant Physiol. Biochem.* 37 : 949–953.
- Ono, K., H. Sasaki, T. Hara, K. Kobayashi and K. Ishimaru 2003. Changes in photosynthetic activity and export of carbon by overexpressing a maize sucrose-phosphate synthase gene under elevated  $CO_2$  in transgenic rice. *Plant Prod. Sci.* 6 : 281–286.
- Peet, M. M., S. C. Huber and D. T. Patterson 1986. Acclimation to high  $CO_2$  in monoecious cucumbers. *Plant Physiol.* 80 : 63–67.
- Quick, P., G. Siegel, E. Neuhaus, R. Feil and M. Stitt 1989. Short-term water stress leads to a stimulation of sucrose synthesis by activating sucrose-phosphate synthase. *Planta* 177 : 535–546.
- Reimholz, R., P. Geigenberger and M. Stitt 1994. Sucrose-phosphate synthase is regulated via metabolites and protein phosphorylation in potato tubers, in a manner analogous to the enzyme in leaves. *Planta* 192 : 480–488.
- Rhodes, D. and A. D. Hanson 1993. Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44 : 375–384.
- Rocher, J. P., J. L. Prioul, A. L. Lechamy, A. Reyss and M. Jousaume 1989. Genetic variability in carbon fixation, sucrose-P-synthase and ADP glucose pyrophosphorylase in maize plants of differing growth rate. *Plant Physiol.* 89 : 416–420.
- Salerno, G. L., M. D. Crespi, E. J. Zabaleta and H. G. Pontis 1991. Sucrose-phosphate synthase from wheat. Characterization of peptides by immunoblotting analysis. *Physiol. Plant.* 81 : 541–547.
- Salerno, G. L., E. Echeverria and H. G. Pontis 1996. Activation of sucrose-phosphate synthase by a protein factor/sucrose-phosphate phosphatase. *Cell. Mol. Biol.* 42 : 665–672.
- Salvucci, M. E., R. R. Drake and B. E. Haley 1990. Purification and photoaffinity labelling of sucrose phosphate synthase from spinach leaves. *Arch. Biochem. Biophys.* 281 : 212–218.
- Sasek, T. W., E. H. Delucia and B. R. Strain 1985. Reversibility of photosynthetic inhibition in cotton after long-term exposure to elevated  $CO_2$  concentrations. *Plant Physiol.* 78 : 619–622.
- Scofield, G. N., T. Hirose, J. A. Gaudron, N. M. Upadhyaya, R. Ohsugi and R. T. Furbank 2002. Antisense suppression of the rice sucrose transporter gene *OsSUT1*, leads to impaired grain filling and germination but dose not affect photosynthesis. *Funct. Plant Biol.* 29 : 815–826.
- Seneweera, S.P., A.S. Basra, E.W. Barlow and J.P. Conroy 1995. Diurnal regulation of leaf blade elongation in rice by  $CO_2$ . *Plant Physiol.* 108 : 1471–1477.
- Signora, L., N. Galtier, L. Skot, H. Lucas and C. H. Foyer 1998. Overexpression of sucrose phosphate synthase in *Arabidopsis thaliana* results in increased foliar sucrose / starch ratios and favours decreased foliar carbohydrate accumulation in plants after prolonged growth with  $CO_2$  enrichment. *J. Exp. Bot.* 46 : 669–680.

- Sonnnewald, U., W. P. Quick, E. MacRae, K. P. Krause and M. Stitt 1993. Purification, cloning and expression of spinach leaf sucrose-phosphate synthase in *Escherichia coli*. *Planta* 189 : 174–181.
- Takahashi, S., K. Ono, M. Ugaki, K. Ishimaru, N. Aoki and R. Ohsugi 2000. Ser162-dependent inactivation of overproduced sucrose-phosphate synthase protein of maize leaf in transgenic rice plants. *Plant Cell Physiol.* 41 : 977–981.
- Thimann, K.V. 1980. The senescence of leaves. In *Senescence in Plants*. Thimann, K.V. ed., CRC Press, Boca Raton, FL. 85–115.
- Tobias, D. J., T. Hirose, K. Ishimaru, T. Ishige, Y. Ohkawa, Y. Kano-Murakami, M. Matsuoka and R. Ohsugi 1999. Elevated sucrose-phosphate synthase activity in source leaves of potato plants transformed with the maize SPS gene. *Plant Prod. Sci.* 2 : 92–99.
- Toroer, D., and S. C. Huber 1997. Protein phosphorylation as a mechanism for osmotic-stress activation of sucrose-phosphate synthase in spinach leaves. *Plant Physiol.* 114 : 947–955.
- Toroer, D., G. S. Antwal and S. C. Huber 1998. Site-specific regulatory interaction between spinach leaf sucrose-phosphate synthase and 14-3-3 proteins. *FEBS Lett.* 435 : 110–114.
- Toroer, D. R., Jr. McMichael, K. P. Krause, J. Kurreck, U. Sonnnewald, M. Stitt and S. C. Huber 1999. Site-directed mutagenesis of serine 158 demonstrates its role in spinach leaf sucrose-phosphate synthase modulation. *Plant J.* 17 : 407–413.
- Winter, H. and S. C. Huber 2000. Regulation of sucrose metabolism in higher plants: Localization and regulation of activity of key enzymes. *Cr. Rev. Plant Sci.* 19 : 31–67.
- Wong, S. C. 1990. Elevated atmospheric partial pressure of CO<sub>2</sub> and plant growth. II. Nonstructural carbohydrate in cotton plants and its effect on growth parameters. *Photosynth. Res.* 23 : 171–180.
- Worrell, A.C., J. M. Bruneau, K. Summerflet, M. Boersig and T. A. Voelker 1991. Expression of a maize sucrose phosphate synthase in tomato alters leaf carbohydrate partitioning. *Plant Cell* 3 : 1121–1130.
- Xu, D.-Q., R. M. Gifford and W. S. Chow 1994. Photosynthetic acclimation in pea and soybean to high atmospheric CO<sub>2</sub> partial pressure. *Plant Physiol.* 106 : 661–671.
- Yelle, S., R. C. Jr. Beeson, M. J. Trudel and A. Gosselin 1989. Acclimation of two tomato species to high atmospheric CO<sub>2</sub>. I. Sugar and starch concentration. *Plant Physiol.* 90 : 1465–1477.
- Zrenner, R. and M. Stitt 1991. Comparison of the effect of rapidly and gradually developing water-stress on carbohydrate-metabolism in spinach leaves. *Plant Cell Environ.* 14 : 939–946.

**Sucrose-phosphate Synthase : A Key Enzyme of Sucrose Synthesis in Plants** : Kiyomi ONO<sup>1)</sup> and Ken ISHIMARU<sup>2)</sup> (<sup>1)</sup>*The Institute of Low Temperature Science, Hokkaido Univ., Japan;* <sup>2)</sup>*National Institute of Agrobiological Sciences, Tsukuba 305-8602, Japan*)

**Abstract** : Sucrose-phosphate synthase (SPS) is a key enzyme in the synthetic pathway of sucrose, which is a main translocation form of photosynthates. SPS is involved in many processes related to important agronomic traits such as growth and yield of plants. This article reviews the current knowledge of SPS in higher plants.

**Key words** : Growth, High CO<sub>2</sub> concentration, Phosphorylation, Sucrose, Sucrose-phosphate synthase, Translocation, Yield.