

氏名	金松澄雄 かねまつすみを
学位の種類	農学博士
学位記番号	論農博第1300号
学位授与の日付	昭和62年1月23日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	PHYLOGENIC AND BIOCHEMICAL STUDIES ON CUPROZINC, MANGANIC AND FERRIC SUPER- OXIDE DISMUTASES (Cu, Zn-, Mn- および Fe-スーパーオキシドジスムターゼに 関する生物系統進化的, 生化学的研究)

(主査)  
論文調査委員 教授 淺田浩二 教授 森田雄平 教授 千田 貢

### 論文内容の要旨

本論文はスーパーオキシドラジカルの不均化反応を触媒し生物の酸素障害を防御する機能をもつ3種のスーパーオキシドジスムターゼ(SOD), すなわち Cu, Zn-, Mn-, Fe-SOD の分子的性質と生物界での分布, さらにこれらを基とする SOD の分子進化についての研究結果をまとめたものであり, 主な内容は次の通りである。

まず, 3種の SOD の KCN, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> による阻害, 不活性化が異なることを利用し, 嫌気性光合成細菌, 好気性窒素固定細菌, らん藻, 真核藻類, コケ植物, シダ植物, 裸子植物, 被子植物, 真菌, 海綿動物, 腔腸動物, 軟体動物, 棘皮動物, 節足動物など進化の段階を異にする140種の生物について, Cu, Zn-, Mn-, Fe-SOD の分布を調べた結果を得ている。(1)嫌気性細菌には Fe-SOD のみが存在する。(2)好気性細菌, 大部分の藻類, 原生動物には Fe-SOD, Mn-SOD が存在するが, Cu, Zn-SOD は存在しない。(3)好気性細菌でも細胞内が嫌氣的と考えられる窒素固定細菌 (*Azotobacter*, *Rhizobium*) は Fe-SOD をもつ。(4)真核藻類のうち Cu, Zn-SOD をもつものは *Nitella*, *Spirogyra* に限られる。無脊椎動物, 真菌, 陸上植物では Fe-SOD, Mn-SOD も存在するが, Cu, Zn-SOD が主要 SOD である。

さらに *Spirogyra*, スギナ, ホウレンソウ, イネから Cu, Zn-SOD, 紅色イオウ細菌, 緑色イオウ細菌, *Azotobacter*, *Euglena*, ホウレンソウから Fe-SOD, 紅藻から Mn-SOD をそれぞれ単離, 精製し, 分子的性質を明らかにした。これによって3種の SOD の生物間での上記の分布をさらに確認すると共に, 陸上植物は免疫反応でも, また, アミノ酸配列の上でも異なる2種の Cu, Zn-SOD をもち, そのうち一つは葉緑体に局在していることを証明した。

以上の結果を基として次のような SOD の分子進化を提案している。すなわち, Fe-SOD がまず嫌気性細菌に獲得され, ついで地球上に酸素が蓄積するに伴い Fe-SOD とアミノ酸配列の上で相同性の高い Mn-SOD が出現し, 好気性細菌, らん藻, 真核藻類, 原生動物では Mn-, Fe-SOD が主要な SOD となった。Cu, Zn-SOD は今から6億年前に獲得され, これ以降に出現した動物, 真菌, 藻類, 植物で主

要な SOD となっているが、これらの生物でも Mn-SOD, Fe-SOD の遺伝子は保存され、量的には少ないけれども発現する。

最後に Mn-SOD, Fe-SOD と  $H_2O_2$  の反応について詳細な反応動力学的解析を行い、Mn-SOD, Fe-SOD が  $H_2O_2$  によって還元されること、還元された Mn-SOD はそれ以上反応しないが、還元型 Fe-SOD はカタラーゼ活性を示すこと、しかし還元型 Fe-SOD は  $H_2O_2$  によって失活する反応系路もあり最終的には Fe-SOD は Mn-SOD と異なり  $H_2O_2$  によって失活することを証明した。

### 論文審査の結果の要旨

スーパーオキシドジスムターゼ (SOD) はスーパーオキシドラジカル ( $O_2^-$ ) の不均化反応を拡散律速に近い反応速度で触媒し、細胞内の  $O_2^-$  を消去している。これによって  $O_2^-$ 、および、 $O_2^-$  から生ずるヒドロキシルラジカルによる細胞成分の酸化が抑制され、生物の酸素による障害を防いでいる。SOD は反応中心となる金属によって Cu, Zn-, Mn-, Fe-SOD の3種が見い出されているが、著者は3種の SOD の分子的性質、光合成生物を中心とする生物界での分布から、酸素障害の防御機構の進化にとって重要な SOD の分子進化を明らかにしようとした研究結果をとりまとめている。

進化の段階を異にする140種の生物における3種の SOD の分布、10種の生物からの SOD の単離精製とその分子的性質の解明によって著者は Fe-SOD→Mn-SOD→Cu, Zn-SOD の順に SOD が生物に獲得されてきたと結論している。まず Fe-SOD が嫌気性細菌に存在することを示し、らん藻によって酸素が大気中に蓄積する以前で現在の1万分の1以下と考えられる酸素濃度の下で出現した生物にとっても SOD の存在が生存に必須であることを明らかにした。

ついで好気性細菌、らん藻、真核藻類の大部分、原生動物に Fe-SOD とともに Mn-SOD が存在することからアミノ酸配列の上で相同性の高い Fe-SOD から Mn-SOD の進化が明らかとなった。Fe-SOD, Mn-SOD とアミノ酸配列の上で相同性のない Cu, Zn-SOD は藻類では *Nitella*, *Spirogyra* にのみ存在し、また無脊椎動物を含む動物、真菌、陸上植物では Cu, Zn-SOD が主要 SOD であることから、Cu, Zn-SOD は酸素濃度が現在の1%になったと考えられる6億年前に初めて生物に獲得されたと推定される。

コケ植物、シダ植物、被子植物において Cu, Zn-SOD は基本的性質は類似しているがアミノ酸配列の異なる2種の形で存在しその一つは葉緑体に局在していることが証明された。この結果は細胞内局在性を異にする同じ機能をもつ酵素が平行的に進化してきたことを示している。

著者は10種の生物から精製した Cu, Zn-, Mn-, Fe-SOD の詳細な分子的性質を明らかにし、上記の推論をこれらの結果によって分子レベルでも確認している。とくに Fe-SOD についてはその  $H_2O_2$  との反応性について動力学的解析を行い、還元型 Fe-SOD はカタラーゼ活性をもつことを証明した。Fe-SOD をもつ嫌気性細菌でもカタラーゼを含んでいないことが多いため、これらの細菌では Fe-SOD のカタラーゼ活性が  $H_2O_2$  消去に機能していると推定される。

以上のように本論文は  $O_2^-$  が光によって生成し酸素障害を受けやすい光合成生物を中心に SOD の分子進化を明らかにし、生物圏の酸素濃度が生物進化に及ぼしてきた影響を考える上で欠かすことのできな

い酸素障害防御機構の進化について貴重な知見を提供し、タンパク質の分子進化のみならず生物進化学、植物光生化学に寄与するところが大きい。

よって、本論文は農学博士の学位論文として価値あるものと認める。

なお、昭和61年12月25日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、農学博士の学位を授与される学力が十分あるものと認めた。