

カンショにおけるショ糖合成酵素の発現様式に関する研究

齋藤 和幸・荒木 卓哉・縣 和一
窪田 文武・中山 薫

(九州大学農学部)

1997年4月15日受理

要 旨: 過去に報告されたショ糖合成酵素 (EC 2. 4. 1. 13) で保存性の高い領域をもとにして一本鎖のオリゴヌクレオチドプライマーを作成し、カンショ塊根のポリ(A)⁺ RNA より合成した cDNA を鋳型として PCR を行ったところ、1,191 bp の cDNA (IBSUS) が増幅された。IBSUS の塩基配列はバレイショの二種類のショ糖合成酵素 cDNA の対応する領域と 82% および 86% の高い相同性を示した。単子葉植物であるトウモロコシ、イネおよびオオムギのショ糖合成酵素とは 76~77% とわずかに相同性が低かった。カンショ塊根におけるショ糖合成酵素の活性は、葉身、葉柄、ほふく茎および細根のショ糖合成酵素活性に比べて高かった。また、塊根形成過程において、根のショ糖合成酵素活性はショ糖含量の上昇にともなって著しく増加した。IBSUS をプローブとしたノーザンブロット分析では、葉柄、ほふく茎、細根および塊根において約 2.4 kb の一本のショ糖合成酵素 mRNA が検出され、部位別および塊根形成過程における根のショ糖合成酵素の mRNA レベルはショ糖合成酵素活性で得られた結果とよく一致した。また、葉柄ではショ糖濃度を高めるとショ糖合成酵素の活性が増加した。

キーワード: 遺伝子発現, カンショ, ショ糖, ショ糖合成酵素 (EC 2. 4. 1. 13)。

Expression of Sucrose Synthase in Sweet Potato: Kazuyuki SAITOU, Takuya ARAKI, Waichi AGATA, Fumitake KUBOTA and Kaoru NAKAYAMA (*Faculty of Agriculture, Kyushu University, Hakozaki, Higashiku, Fukuoka 812-81, Japan*)

Abstract: PCR amplification of cDNA prepared from the poly(A)⁺ RNA of tuberous roots of sweet potato, using degenerate oligonucleotide primers based on highly conserved regions among sucrose synthase (EC 2. 4. 1. 13) reported previously, yielded a cDNA of 1,191 bp (IBSUS). The nucleotide sequence of IBSUS exhibited a high degree of homology with the corresponding regions of the potato sucrose synthase cDNA sequences (82 and 86% of identical nucleotides). Less homology (76~77%) was found in the monocotyledonous sequences (maize, rice and barley). The activity of sucrose synthase in the tuberous roots of sweet potato was higher than that in other parts, namely, leaf blades, petioles, stolons and fibrous roots. The activity of sucrose synthase in roots increased markedly following an increase in sucrose during development of the tuberous roots. Northern blot analysis using IBSUS as a probe revealed that a signal of sucrose synthase mRNA with a size of approximately 2.4 kb was present in petioles, stolons, fibrous roots and tuberous roots, and the levels of sucrose synthase mRNA in different parts and in the roots during development of tuberous roots were highly correlated with enzymatic activities. In petioles, an increase in sucrose concentration led to an increase in the activity of sucrose synthase.

Key words: Gene expression, Sucrose, Sucrose synthase (EC 2. 4. 1. 13), Sweet potato.

ショ糖合成酵素 (EC 2. 4. 1. 13) は、ショ糖と UDP から UDP グルコースとフルクトースを生成する反応を触媒する酵素である。ショ糖合成酵素は高等植物のいたる所に存在し²⁾、いくつかの植物について、その酵素活性が糖の取り込み³²⁾、デンプン合成⁹⁾、細胞壁合成⁹⁾ およびシンク能力³¹⁾と密接な

関係にあることが報告されている。

単子葉植物のショ糖合成酵素遺伝子は発現様式や塩基配列の違いから *Sus1* 型と *Sus2* 型の二種類に分けられている^{8,16,19,26,28,35,36,38)}。例えば、トウモロコシでは *Sus1* 遺伝子と *Sus2* 型である *Sh1* 遺伝子のコードするショ糖合成酵素アイソザイムが存在し、その酵素的および構造的特徴は類似している^{6,10)}。しかし、*Sh1* 遺伝子は主に胚乳で発現しているのに対して、*Sus1* 遺伝子は胚乳、胚、根およびシュートを含む多くの組織で発現している⁷⁾。また、*Sh1* 遺伝子は炭水化物の供給が制限された条件下で発現が最大になるのに対し、*Sus1* 遺伝子は糖濃度の増加によって発現が誘導される¹⁵⁾。

略語: b, 塩基; bp, 塩基対; cDNA, メッセンジャーリボ核酸に相補的なデオキシリボ核酸; dCTP, デオキシシチジン三リン酸; DNA, デオキシリボ核酸; dNTP, デオキシヌクレオシド三リン酸; EDTA, エチレンジアミン四酢酸; g, 重力加速度; PCR, ポリメラーゼ連鎖反応; RNA, リボ核酸; SDS, ドデシル硫酸ナトリウム; UDP, ウリジン二リン酸。

双子葉植物であるリョクトウ¹⁾, ソラマメ¹⁴⁾, トマト³⁴⁾ およびニンジン²⁷⁾ では一種類のショ糖合成酵素の cDNA しか単離されていなかったことから, 双子葉植物では一種類のショ糖合成酵素しか存在しないのではないかと考えられたが, 最近, シロイヌナズナ^{4,17)} とバレイショ¹²⁾ では少なくとも二種類のショ糖合成酵素遺伝子が存在することが報告された。しかし, それらは塩基配列の相同性から *Sus1* と *Sus2* 型に分類することができず, また, 発現様式も単子葉植物のものと一致しなかった。シロイヌナズナやバレイショのショ糖合成酵素遺伝子で得られた知見が双子葉植物のショ糖合成酵素に共通したものか明らかにするためには, 双子葉植物のさらに多くのショ糖合成酵素の cDNA や遺伝子を単離し, それらの発現様式を検討する必要がある。

カンショのショ糖合成酵素に関しては, 村田^{22,23)} が酵素の性質について詳細な研究を行っているが, 遺伝子レベルでの研究はほとんど進んでいない。本研究ではカンショの塊根形成過程を遺伝子レベルで理解するための第一歩として, カンショにおけるショ糖合成酵素の発現様式および発現調節について検討した。

材料と方法

1. 植物材料

カンショ (*Ipomoea batatas* Lam.) 品種コガネセンガン を供試した。コガネセンガンは, 室温 25°C, 湿度 70%, 12 時間日長, 明期の光強度 250 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ に設定したグロースキャビネット内で二葉挿し栽培法で生育させた。二葉挿し苗は, ほふく茎の先端から数えて第 2 葉と第 3 葉および第 4 葉の葉柄と不定根原基を付けたものとし, パーミキュライト (粒径 2~5 mm) をつめた 1/5000 a のワグネルポットに植え付けた。但野と田中の培養液²⁴⁾ を 1 週間に 2 回, 1 ポット当たり 400 mL 与えた。植え付け後経時的に採取した植物体は蒸留水で洗浄した後, 液体窒素を用いて凍結させ, -80°C で保存した。

葉一葉柄部のショ糖処理は, コガネセンガンの植物体より葉身を付けたまま葉柄を切り取り, グロースキャビネット内で葉柄の切断部をショ糖溶液に 6 日間浸すことにより行った。

2. RNA の調整と cDNA の合成

全 RNA は, 葉身, 葉柄, ほふく茎, 細根 (最も太い部分の直径が 2 mm 以下の根) および塊根 (最

も太い部分の直径が 5 mm 以上の根) より Extract-A-PlantTM RNA Isolation Kit (クローンテック製) を用いて抽出した。さらに, 塊根より抽出した全 RNA から mRNA Purification Kit (ファルマシアバイオテック製) を用いて mRNA を精製した。得られた mRNA を鋳型にして TimeSaver cDNA Synthesis Kit (ファルマシアバイオテック製) を用いて cDNA を作成した。

3. PCR のためのプライマーと条件

バレイショ²⁵⁾, ニンジン²⁷⁾, トウモロコシ³⁶⁾, イネ³⁵⁾, シロイヌナズナ⁴⁾, リョクトウ¹⁾ およびオオムギ¹⁸⁾ のショ糖合成酵素で保存性の高い領域より 5'-CCWTGGGTTGCWCTKGCTG-3' (プライマー 1) と 5'-CTAAAGTAGTAGTGKTCGTG-3' (プライマー 2) の二つのオリゴヌクレオチドを作成し, PCR プライマーとして用いた。反応混合液の組成は, 10 ng の cDNA, 0.2 mM dNTP, 1 μM プライマー 1, 1 μM プライマー 2, 10 分の 1 量の反応緩衝液 {10 $\times$ EX Taq Buffer (宝酒造製)} および 2.5 ユニットの TaKaRa Ex Taq (宝酒造製) とした。DNA の変性は, 最初のサイクルでは 94°C で 5 分間行い, 以後のサイクルでは 94°C で 1 分間とした。プライマーのアニーリングと伸長反応はそれぞれ 50°C で 1 分間および 72°C で 10 分間行った。

4. DNA の塩基配列の決定

PCR 産物はアガロースゲル電気泳動を行った後 cDNA のバンドを切り出し, TA CloningTM System (インビトロゲン製) を用いて pCRTM ベクターへ連結した。宿主としては大腸菌系統 INV α F' を用いた。DNA の塩基配列は DNA シーケンサー (モデル 373S; パーキンエルマー製) を用いてダイプライマーサイクルシーケンシング法により決定した。塩基配列の解析は DNA シーケンス入力システム (日立ソフト製) を用いて行った。

5. ノーザンブロットハイブリダイゼーション

20 μg の全 RNA に 1 M グリオキサールと 50% ジメチルスルホキシドを含む 10 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) を加え, 50°C で 1 時間放置した後急冷し, 10 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.0) を含む 1% アガロースゲルで電気泳動した。RNA を 20 $\times$ SSC (1 $\times$ SSC の組成は 0.15 M NaCl と 0.015 M クエン酸ナトリウム溶液) を用いて Hybond-N+ ナイロン膜 (アマシャム製) へ転写した後, UV 光を 3 分間照射して RNA をナイロン

膜へ固定した。次に、ナイロン膜を 20 mM Tris-HCl (pH 8.0) 中で、100°C、10 分間熱処理した。プレハイブリダイゼーションは、50%ホルムアミド、5×SSC、0.02%フィコール、0.02%ポリビニルピロリドン、0.02%牛血清アルブミンおよび 50 $\mu\text{g/ml}$ 変性サケ精巢 DNA を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 6.5) を用いて 42°C、4 時間行った。本研究で得られたカンショショ糖合成酵素の cDNA を *rediprime*TM DNA labelling system (アマシャム製) を用いて ³²P-dCTP でラベルし、プローブとして使用した。ハイブリダイゼーションは 30°C で一晩行った。ナイロン膜を 0.1% SDS を含む 2×SSC を用いて 30°C で 4 回洗浄した後、0.1% SDS を含む 0.1×SSC を用いて 30°C で 2 回洗浄した。ナイロン膜を十分に乾燥させた後、バイオイメージングアナライザー (Fujix BAS1000; 富士写真フイルム製) を用いてシグナルを検出した。

6. 粗酵素抽出液の調整

凍結保存した試料 1 g を乳鉢と乳棒を用いて 1 mM EDTA (pH 7.2)、5 mM 2-メルカプトエタノール及び 5%ポリビニルピロリドンを含む 10 mM リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.2) 中で素早くすり潰し、4 重層のガーゼでろ過した。10,000×*g* で 5 分間遠心分離した後、上清を酵素活性と可溶性タンパク質含量の測定に供試した。なお、上述したすべての手順は 4°C で行った。

7. ショ糖合成酵素活性および可溶性タンパク質含量の測定

ショ糖合成酵素の活性は、ショ糖を分解する方向に Morell と Copeland²¹⁾ の方法に従って測定した。

可溶性タンパク質含量は、コマジープリリアントブルー G-250 を用いた Bradford³⁾ の方法に従って 595 nm の吸光度より決定した。標準曲線は牛血清アルブミンを用いて作成した。

8. デンプン含量の分析

液体窒素中で粉砕した根に 100 倍容 (w/v) の氷冷した 50 mM Hepes-NaOH (pH 7.5) を加え、100°C で 10 分間熱処理した。17,500×*g* で 15 分間遠心分離し、上清を捨てた。冷やした 80%メタノールを用いて沈殿物を二度洗浄した後、沈殿物に蒸留水を加えて懸濁させた。懸濁液を 100°C で 2 時間熱処理してデンプンを可溶化した後、F-キット スターチ (ベーリンガー・マンハイム製) を用いてデンプン含量を測定した。

9. 糖含量の分析

液体窒素中で粉砕した根に 3 倍容 (w/v) の 3% 過塩素酸を加えて糖を抽出した後、2.5 M 炭酸カリウムを用いて pH 7.6 に調整した。17,500×*g* で 10 分間遠心分離後、沈殿物に蒸留水を加えて懸濁し、再度 17,500×*g* で 10 分間遠心分離した。二度の遠心分離で得られた上清を糖含量の測定に用いた。ショ糖、グルコースおよびフルクトース含量は、F-キット ショ糖/グルコース/フルクトース (ベーリンガー・マンハイム製) を用いて測定した。

結 果

1. カンショ塊根のショ糖合成酵素 cDNA の特徴

ノーザンプロットハイブリダイゼーションにおけるプローブを得るため、他の植物のショ糖合成酵素で保存性の高い領域をもとにプライマーを作成し、カンショ塊根より得た cDNA を鋳型として PCR を行った。PCR によって 1,189 bp の cDNA が増幅された。得られた cDNA のプローブとしての有効性を検討するため、塩基配列を決定した後 (データは示していない)、バレイショ¹²⁾、シロイヌナズナ^{4,17)}、トウモロコシ^{28,36)}、イネ^{35,38)} およびオオムギ^{18,26)} のショ糖合成酵素遺伝子の相当する領域との相同性を比較した (第 1 表)。本 cDNA は検討し

Table 1. Comparison of the degree of identity between the nucleotide sequence of IBSUS and the corresponding nucleotide sequences for sucrose synthase genes from different plants.

Plant source	% Identity
	Sweet potato IBSUS
Potato <i>Sus3</i>	82
Potato <i>Sus4</i>	85
Arabidopsis <i>SSA</i>	72
Arabidopsis <i>Asus1</i>	74
Maize <i>Sus1</i>	76
Maize <i>Sh1</i>	76
Rice <i>Sus1</i>	76
Rice <i>Sus2</i>	77
Barley <i>Sus1</i>	77
Barley <i>Sus2</i>	76

Sources of the sucrose synthase sequences are as follows, potato *Sus3*¹²⁾; potato *Sus4*¹²⁾; Arabidopsis *SSA*⁴⁾; Arabidopsis *Asus1*¹⁷⁾; maize *Sus1*²⁸⁾; maize *Sh1*³⁶⁾; rice *Sus1*³⁸⁾; rice *Sus2*³⁵⁾; barley *Sus1*¹⁸⁾; barley *Sus2*²⁶⁾; and sweet potato IBSUS, this study.

た植物のすべてのショ糖合成酵素に対して 72% 以上の高い相同性を示したため、カンショにおけるショ糖合成酵素の cDNA の一部と同定し、IBSUS と名付けた。IBSUS はバレイショのショ糖合成酵素と特に高い相同性を示したが、同じ双子葉植物であるシロイヌナズナのショ糖合成酵素とは単子葉植物であるトウモロコシ、イネおよびオオムギのショ糖合成酵素よりも相同性が低かった。IBSUS とバレイショ *Sus3* および *Sus4* との相同性を比較すると、*Sus3* よりも *Sus4* との相同性が高かったが、その差は小さかった。また、IBSUS と単子葉植物の *Sus1* 型および *Sus2* 型との相同性は、種を越えてほぼ一致した。

2. ショ糖合成酵素の部位別の発現様式

苗植え付け後 35 日目の植物体の葉身、葉柄、ほふく茎、細根（最も太い部分の直径が 2 mm 以下）および塊根（最も太い部分の直径が 5 mm 以上）におけるショ糖合成酵素活性を第 1 図に示した。ショ糖合成酵素活性は、塊根で最も高く、葉柄ではその約 2 分の 1、ほふく茎と細根では約 4 分の 1 の活性であり、葉身ではほとんど検出できなかった。

さらに、葉身、葉柄、ほふく茎、細根および塊根におけるショ糖合成酵素の発現を mRNA レベルで検討するため、IBSUS をプローブとしてノーザンブロット分析を行った（第 2 図）。葉柄、ほふく茎、細根および塊根ではそれぞれ約 2.4 kb の一本のバンドが検出された。ショ糖合成酵素の mRNA は塊根で最も多く、次いで葉柄、さらに、ほふく茎および細根の順に少なかった。また、葉身ではショ糖合成酵素の mRNA を検出することができなかった。この結果は部位別のショ糖合成酵素活性の結果とよく一致した。

3. 塊根形成過程の根におけるショ糖合成酵素の発現様式

苗植え付け後の根のショ糖合成酵素活性、直径およびデンプン含量を経時的に測定した（第 3 図）。ショ糖合成酵素活性、直径およびデンプン含量はサンプリングした個体の根の中で最も太い根の値で示した。苗植え付け後ショ糖合成酵素の活性は経時的に増加し、根の直径もショ糖合成酵素の活性と並行的に増加した（第 3 A, B 図）。根のデンプン含量は苗植え付け後 14 日目は低かったが、21 日目から急激に高まり、ショ糖合成酵素活性の増加を追うように増加した（第 3 A, C 図）。

さらに、塊根形成過程におけるショ糖合成酵素の

発現様式を mRNA レベルで検討するため、苗植え付け後 14 日目、21 日目および 28 日目の根より全 RNA を抽出し、IBSUS をプローブとしてノーザンブロット分析を行った（第 4 図）。すべての根において約 2.4 kb の一本のバンドが検出された。ショ糖合成酵素の mRNA は経時的に増加し、ショ糖合成酵素活性の増加過程と一致した。

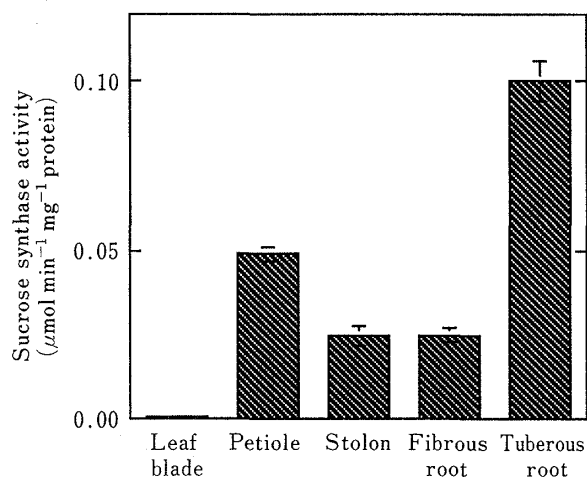


Fig. 1. Activities of sucrose synthase in various parts of sweet potato. Each point represents the mean value from four replicates, and vertical lines show the standard deviation.

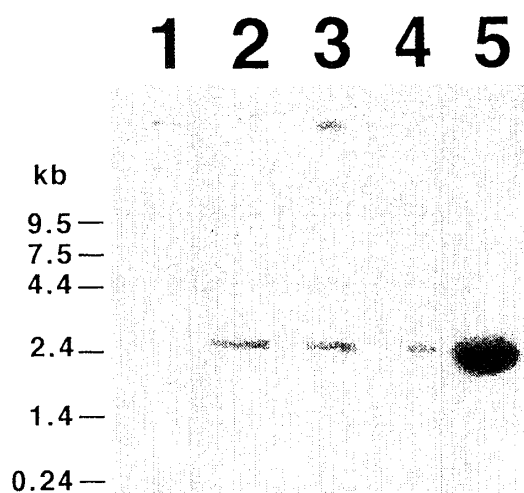


Fig. 2. Northern blot analysis of total RNA from different parts of sweet potato. An equal amount (20 μg) of total RNA from each sample was loaded in each lane. The blot was probed with ³²P-labeled IBSUS. RNA was isolated from leaf blades (lane 1), petioles (lane 2), stolons (lane 3), fibrous roots (lane 4) and tuberous roots (lane 5). Molecular length standards are indicated at left in kilobases.

4. ショ糖合成酵素活性と糖含量との関係

塊根形成過程の根におけるショ糖合成酵素活性と反応基質および代謝産物との関係を検討するため、苗植え付け後14日目、21日目および28日目の根のショ糖、グルコースおよびフルクトースの含量を測定した(第3D図)。ショ糖含量はショ糖合成酵素活性に先立って増加する傾向が見られ、21日目にはほぼ最高値に達した。グルコースやフルクトースは期間を通してショ糖に比べて含量が低く、ショ糖合成酵素活性の経時的变化との関連性が認められなかった。

ショ糖合成酵素の活性とショ糖濃度との関係をさらに詳しく検討するため、コガネセンガンの植物体より葉身を付けたまま葉柄を切り取り、葉柄の切断部を異なる濃度のショ糖溶液に6日間浸す処理を行い、葉柄のショ糖合成酵素の活性を測定した(第5図)。葉柄のショ糖合成酵素活性は6%ショ糖溶液までショ糖濃度の上昇とともに増加したが、9%ショ糖溶液ではショ糖合成酵素活性が急激に減少した。

考 察

単子葉植物のショ糖合成酵素遺伝子は塩基配列の相同性から *Sus1* 型と *Sus2* 型に分けることができる¹²⁾。しかし、IBSUSは検討した単子葉植物のすべてのショ糖合成酵素と76~77%の高い相同性を示したことから、*Sus1* 型および *Sus2* 型のいずれのショ糖合成酵素 mRNA とも結合すると考えられる。また、IBSUSはバレイショの *Sus3* 遺伝子および *Sus4* 遺伝子の対応する領域とそれぞれ82%と85%の高い相同性を示したことから、カンショに *Sus3* 型と *Sus4* 型のショ糖合成酵素が存在すれば、両者を区別せずいずれの mRNA とも結合すると考えられる。

バレイショの *Sus3* 遺伝子と *Sus4* 遺伝子の mRNA は電気泳動した時の移動度が異なるため、ノーザンブロット分析によって両者を明確に区別することができた¹²⁾。本研究では、カンショの葉身、葉柄、ほふく茎、細根および塊根より全 RNA を抽出し、IBSUS をプローブとしてノーザンブロット

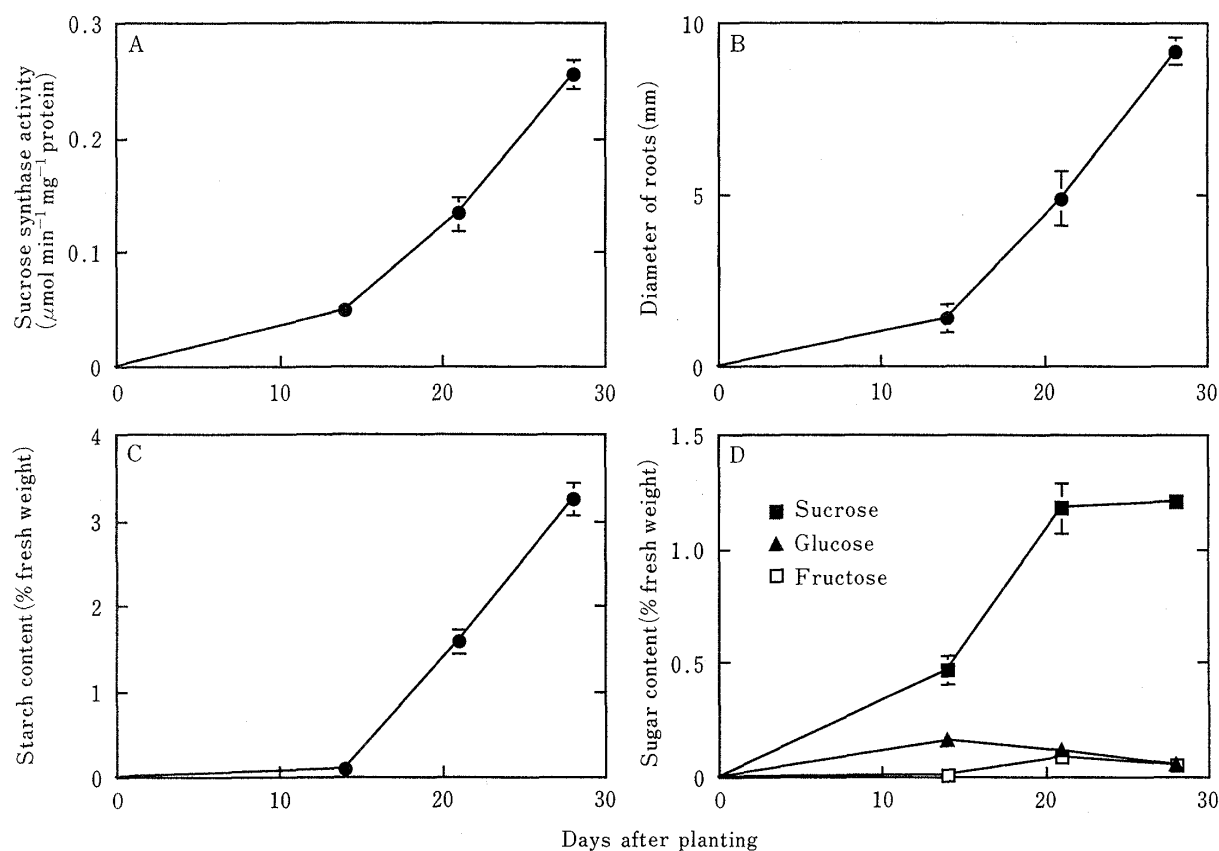


Fig. 3. Changes in the activity of sucrose synthase in roots (A), the diameter of roots (B), the starch content (C) and soluble sugar contents (D) in roots after planting. Each point represents the mean value from four replicates. Vertical lines show the standard deviation, and in some cases these values are smaller than the diameter of the symbols.

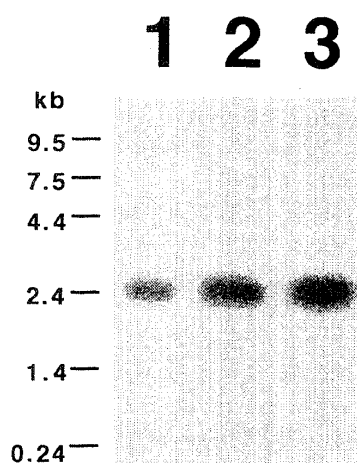


Fig. 4. Steady-state mRNA levels for sucrose synthase in roots during growth. Twenty micrograms of total RNA from each sample were fractionated by electrophoresis, and then blotted on a nylon membrane and hybridized with a radiolabeled probe prepared from IBSUS. RNA was isolated from roots of sweet potato grown for 14 days (lane 1), 21 days (lane 2) and 28 days (lane 3) after planting. Molecular length standards are indicated at left in kilobases.

分析を行ったが、葉柄、ほふく茎、細根および塊根において約 2.4 kb の一本のバンドしか検出できなかった。電気泳動する全 RNA 量を増すとともに泳動距離を長くし、ハリブリダイゼーションの温度を下げて同様の結果であった（データは示していない）。

また、バレイショの *Sus3* 遺伝子と *Sus4* 遺伝子は部位別の発現様式が異なり、*Sus3* 遺伝子は根と茎で最も発現量が多く、葉身でも通常発現している¹²⁾。*Sus4* 遺伝子は塊茎で最も発現量が多く、成熟した葉身では通常発現されない。IBSUS の mRNA は塊根で最も多く、葉身で検出されなかったことから、IBSUS の遺伝子は *Sus4* 遺伝子と類似した役割を持つと考えられる。しかし、*Sus4* 遺伝子の mRNA は茎で検出されなかったのに対し、IBSUS の mRNA はほふく茎にも相当量存在した。この違いは植物種によってショ糖合成酵素の発現様式が異なっているため生じたものなのか、あるいは、カンショでは *Sus3* 型と *Sus4* 型の mRNA のバンドが重なっているため生じたものなのか、今後さらに詳細な検討が必要である。

トウモロコシの *Sus1* 遺伝子と *Sh1* 遺伝子の発現は転写後以降の調節が行われていることが報告され

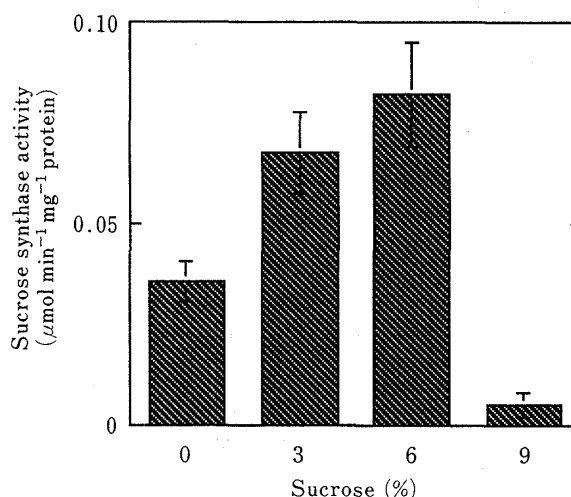


Fig. 5. Dependence of the activity of sucrose synthase in the petiole portions of leaf-petiole cuttings on the concentration of sucrose. Leaf-petiole cuttings were treated with a solution of sucrose at various concentrations for 6 days. Each point represents the mean value from four replicates, and vertical lines show the standard deviation.

ている^{20,33)}。双子葉植物であるソラマメ¹⁴⁾やリョクトウ¹⁾についても、種子の発達過程におけるショ糖合成酵素の mRNA の変化と酵素活性の変化が必ずしも一致しなかった。カンショでは部位別および塊根形成過程におけるショ糖合成酵素の mRNA レベルと酵素活性の変化がよく一致したことから、カンショのショ糖合成酵素の発現は主に mRNA レベルで調節されており、植物種によってショ糖合成酵素の発現調節メカニズムが異なっていることが推察された。

多くの植物ではショ糖が代謝や生長を調節する中心的な役割を担っており³⁷⁾、ショ糖合成酵素を含む多くの酵素の発現がショ糖やヘキソースによる直接的あるいは間接的制御を受けている^{11,15)}。カンショの塊根形成過程において、根のショ糖含量はショ糖合成酵素活性に先立って増加する傾向が見られた。また、葉身を付けた葉柄のショ糖処理では 6% ショ糖溶液までショ糖濃度の上昇とともに葉柄のショ糖合成酵素活性が増加した。したがって、カンショにおいてもショ糖合成酵素の発現はショ糖濃度による制御を受けていると考えられる。なお、葉身を付けた葉柄のショ糖処理では、9% ショ糖溶液で葉柄のショ糖合成酵素活性が著しく減少した。これは、

9%ショ糖処理によって葉身が黄化したことから、高濃度のショ糖による障害のためであると考えられる。

多くの植物では、ショ糖合成酵素はショ糖代謝において重要な役割を果たしており、ショ糖合成酵素の活性はシンク能力を評価する指標として使われている^{29,31,32}。カンショにおいてもショ糖合成酵素活性はシンク器官である塊根で最も高く、ソース器官である葉身ではほとんど検出できなかった。また、塊根形成過程における根のショ糖合成酵素活性は、根の肥大やデンプン含量と並行的に増加したことから、カンショにおいてもショ糖合成酵素の活性はシンク能力の発現と密接に関係していると考えられる。しかし、GeigenbergerとStitt¹³⁾は、バレイショやヒマのショ糖合成酵素はほぼ平衡状態にある反応を触媒していることから、シンク能力はショ糖合成酵素の活性ではなく、ショ糖の利用状態によって規定されていると考えている。今後、ショ糖合成酵素活性の高い形質転換カンショを作成し、シンク能力とショ糖合成酵素活性との関係を明確にする予定である。

引用文献

1. Arai, M., H. Mori and H. Imaseki 1992. Expression of the gene for sucrose synthase during growth of mung bean seedlings. *Plant Cell Physiol.* 33: 503—506.
2. Avigad, G. 1982. Sucrose and other disaccharides. In Loewus, F.A. and W. Tanners eds., *Encyclopedia of Plant Physiology New Series*, Vol. 13A. Springer-Verlag, Berlin. 217—347.
3. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248—254.
4. Chopra, S., J. Del-Favero, R. Dolferus and M. Jacobs 1992. Sucrose synthase of *Arabidopsis*: genomic cloning and sequence characterization. *Plant Mol. Biol.* 18: 131—134.
5. Chourey, P.S. and O.E. Nelson 1976. The enzymatic deficiency conditioned by the shrunken-1 mutations in maize. *Biochem. Genet.* 14: 1041—1055.
6. Chourey, P.S. 1981. Genetic control of sucrose synthetase in maize endosperm. *Mol. Gen. Genet.* 184: 372—376.
7. Chourey, P.S., M.D. Latham and P.E. Still 1986. Expression of two sucrose synthetase genes in endosperm and seedling cells of maize: evidence of tissue specific polymerization of protomers. *Mol. Gen. Genet.* 203: 251—255.
8. Chourey, P.S., E.W. Taliercio and E.J. Kane 1991. Tissue-specific expression and anaerobically induced posttranscriptional modulation of sucrose synthase genes in *Sorghum bicolor* M. *Plant Physiol.* 96: 485—490.
9. Chourey, P.S., Y.-C. Chen and M.E. Miller 1991. Early cell degeneration in developing endosperm is unique to the shrunken mutation in maize. *Maydica* 36: 141—146.
10. Echt, C.S. and P.S. Chourey 1985. A comparison of two sucrose synthase isozymes from normal and *Shrunken* maize. *Plant Physiol.* 79: 530—536.
11. Farrar, J.F. 1991. Starch turnover: its role in source-sink relations and a comparison with the role of sucrose. In Bonnemai, J.L., S. Delrot, E.J. Lucas and J. Dainty eds., *Recent Advances in Phloem Transport and Assimilate Compartmentation*. Oues Editions, Nantes. 213—223.
12. Fu, H. and W.D. Park 1995. Sink- and vascular-associated sucrose synthase functions are encoded by different gene classes in potato. *Plant Cell* 7: 1369—1385.
13. Geigenberger, P. and M. Stitt 1993. Sucrose synthase catalyses a readily reversible reaction *in vivo* in developing potato tubers and other plant tissues. *Planta* 189: 329—339.
14. Heim, U., H. Weber, H. Bäumlein and U. Wobus 1993. A sucrose synthase gene of *Vicia faba* L. Expression pattern in developing seeds in relation to starch synthesis and metabolic regulation. *Planta* 191: 394—401.
15. Koch, K.E., K.D. Nolte, E.R. Duke, D.R. McCarty and W.T. Avigne 1992. Sugar levels modulate differential expression of maize sucrose synthase genes. *Plant Cell* 4: 59—69.
16. Maraña, C., F. García-Olmedo and P. Carbonero 1988. Equivalent locations of sucrose synthase genes in chromosomes 7D of wheat, 7Ag of *Agropyron elongatum*, and 7H of barley. *FEBS Lett.* 234: 417—420.
17. Martin, T., W.B. Frommer, M. Salanoubat and L. Willmitzer 1993. Expression of an *Arabidopsis* sucrose synthase gene indicates a role in metabolism of sucrose both during phloem loading and in sink organs. *Plant J.* 4: 367—377.
18. Martinez de Ilarduya, O., J. Vicente-Carbajosa, P. Sánchez de la Hoz and P. Carbonero 1993. Sucrose synthase genes in barley: cDNA cloning of the Ss2. *FEBS Lett.* 320: 177—181.
19. McCarty, D.R., J.R. Shaw and L.C. Hannah 1986. The cloning, genetic mapping, and expression of the constitutive sucrose synthase locus of maize. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83: 9099—9103.
20. McElfresh, K.C. and P.S. Chourey 1988. Anaerobiosis induced transcription but not translation

- of sucrose synthase in maize. *Plant Physiol.* 87 : 542—546.
21. Morell, M. and L. Copeland 1985. Sucrose synthase of soybean nodules. *Plant Physiol.* 78 : 149—154.
22. 村田孝雄 1971. 甘しょ塊根におけるデンプン生合成に関する研究 (第4報) 甘しょ塊根のショ糖合成酵素 (その1) 塊根の発育にともなう活性の変動と2, 3の性質. *農化* 45 : 441—448.
23. Murata, T. 1971. Sucrose synthetase of sweet potato roots. Part II. A kinetic study. *Agr. Biol. Chem.* 35 : 1441—1448.
24. 大崎 満 1993. 水耕栽培法. *植物細胞工学* 15 : 130—136.
25. Salanoubat, M. and G. Belliard 1987. Molecular cloning and sequencing of sucrose synthase cDNA from potato (*Solanum tuberosum* L.) : preliminary characterization of sucrose synthase mRNA distribution. *Gene* 60 : 47—56.
26. Sánchez de la Hoz, P., J. Vicente-Carbajosa, M. Mena and P. Carbonero 1992. Homologous sucrose synthase genes in barley (*Hordeum vulgare*) are located in chromosomes 7H (syn. 1) and 2H. Evidence for a gene translocation? *FEBS Lett.* 310 : 46—50.
27. Šebkova, V., C. Unger, M. Hardegger and A. Sturm 1995. Biochemical, physiological, and molecular characterization of sucrose synthase from *Daucus carota*. *Plant Physiol.* 108 : 75—83.
28. Shaw, J.R., R.J. Ferl, J. Baier, D. St. Clair, C. Carson, D.R. McCarty and L.C. Hannah 1994. Structural features of the maize *SUS1* gene and protein. *Plant Physiol.* 106 : 1659—1665.
29. Sowokinos, J.R. and J.L. Varns 1992. Induction of sucrose synthase in potato tissue culture : effect of carbon source and metabolic regulators on sink strength. *J. Plant Physiol.* 139 : 672—679.
30. Springer, B., W. Werr, P. Starlinger, D.C. Bennett and M. Zokolica 1986. The *Shrunken* gene on chromosome 9 or *Zea mays* L. is expressed in various plant tissues and encodes an anaerobic protein. *Mol. Gen. Genet.* 205 : 461—468.
31. Sun, J.D., T. Loboda, S.-J.S. Sung and C.C. Black 1992. Sucrose synthase in wild tomato, *Lycopersicon chmielewskii*, and tomato fruit sink strength. *Plant Physiol.* 98 : 1163—1169.
32. Sung, S.-J.S., D.-P. Xu and C.C. Black 1989. Identification of actively filling sucrose sinks. *Plant Physiol.* 89 : 1117—1121.
33. Taliercio, E.W. and P.S. Chourey 1989. Post-transcriptional control of sucrose synthase expression in anaerobic seedlings of maize. *Plant Physiol.* 90 : 1359—1364.
34. Wang, F., A.G. Smith and M.L. Brenner 1994. Isolation and sequencing of tomato fruit sucrose synthase cDNA. *Plant Physiol.* 103 : 1463—1464.
35. Wang, M.-B., D. Boulter and J.A. Gatehouse 1992. A complete sequence of the rice sucrose synthase-1 (*RSSI*) gene. *Plant Mol. Biol.* 19 : 881—885.
36. Werr, W., W.B. Frommer, C. Maas and P. Starlinger 1985. Structure of the sucrose synthase gene on chromosome 9 of *Zea mays* L. *EMBO J.* 4 : 1373—1380.
37. Williams, J.H.H., A.L. Winters and J.F. Farrar 1992. Sucrose : a novel plant growth regulator. In Lambers, H. and L.H.W. van der Plas eds., *Molecular, Biochemical and Physiological Aspects of Plant Respiration*. Academic Publ., Hague, Netherlands. 1—17.
38. Yu, W.-P., A.-Y. Wang, R.-H. Juang, H.-Y. Sung and J.-C. Su 1992. Isolation of rice sucrose synthase cDNA and genomic DNA. *Plant Mol. Biol.* 18 : 139—142.