



光合成生物における生存戦略の分子機構に関する研究

京都大学大学院生命科学研究所 助教 石崎 公庸

はじめに

固着性である植物は、刻一刻と変化する外的環境に適応する仕組みを発達させてきた。私は、光合成生物が外的環境に巧みに適応し、子孫を残すための分子機構を理解することを目指し研究している。特に生物機能発現の基盤であるゲノムを意識し、被子植物に加え陸上植物進化の基部に位置するコケ植物を材料に研究を行ってきた。まず光合成を十分に行うことができないストレス条件下で植物が生存するための分子機構について、ゲノム情報を生かした網羅的アプローチから着想を得、分子遺伝学とメタボロミクス技術を駆使して解析した。また、陸上植物としての体制の成り立ちと進化を解析するため陸上植物進化の基部に位置するコケ植物ゼニゴケに着目し、ゲノム解析に基づく分子遺伝学の基盤を構築した。とくに植物細胞の分化全能性に基づく繁殖様式である栄養繁殖に着目し、ゼニゴケをモデルとして研究している。以下に各研究成果の概略を述べる。

1. 植物の糖欠乏におけるミトコンドリアの機能

植物は光エネルギーを用いて、大気中のCO₂を固定することができる。しかし光が不十分な環境やストレス条件下では光合成が十分に行えず、しばしば糖欠乏状態になることが知られている。私はシロイヌナズナのマイクロアレイデータの解析から、電子伝達フラビンタンパク質複合体 (ETF/ETFQO) が糖欠乏条件下で誘導されることを見だし、糖欠乏環境におけるETF/ETFQO複合体の機能解析を開始した。電子伝達フラビンタンパク質 (ETF) はミトコンドリアマトリクスに局在する種々の脱水素酵素群の電子受容体であり、ETFによって受け取られた電子は、ミトコンドリア内膜に結合する電子伝達フラビンタンパク質-ユビキノン酸化還元酵素 (ETFQO) を介してミトコンドリア電子伝達系のユビキノンを渡される。動物にお

いてETF/ETFQO電子伝達系は、脂肪酸のβ酸化、アミノ酸分解、コリン代謝に必須の役割をもつことが知られているが、植物におけるミトコンドリアETF/ETFQO電子伝達系に関する知見は皆無であった。動物ではミトコンドリアに局在する脂肪酸のβ酸化経路が、植物ではペルオキシソームに局在することが知られており、ETF/ETFQO電子伝達系がかかわる代謝経路の違いとその意義を調べる観点からも興味深い。そこでシロイヌナズナETFおよびETFQO遺伝子の機能欠損変異体を単離し解析を行ったところ、ETF/ETFQO電子伝達系が糖欠乏条件下における生存に重要な役割をもつことを見だした。さらに糖欠乏条件下における野生株と変異体のメタボロミクス解析を行い、ETF/ETFQO複合体が分岐鎖アミノ酸代謝およびリジン代謝にかかわることを明らかにした(図1)。植物は日照不足など種々のストレスにより糖が枯渇した条件下においては、タンパク質分解により生成されたアミノ酸の分解を亢進することでエネルギー(ATP)を獲得しており、ミトコンドリアETF/ETFQO電子伝達系は糖欠乏時のエネルギー供給の鍵であることを示唆した。

2. 基部陸上植物ゼニゴケにおける分子遺伝学研究基盤の構築

植物は、約5億年前に水中の環境から陸上へと進出したと考えられている。陸上は水中に比べ気温や湿度の変化が大きく紫外線も降り注ぐ過酷な環境である。固着性の生活様式をとる植物はどのように過酷な陸上の環境に適応し、現在の体制に進化したのか? そのような問題に答えを見つけるべく、私たちは陸上植物進化の基部に位置するコケ植物ゼニゴケに注目し、分子遺伝学の基盤となる実験手法の開発を進めた。ゼニゴケは半数体が主となる生活環、高い分化能と増殖能、雄雌異株であり交配による遺伝学が簡便であること、など実験モデルとしてさまざまな利点を備えている。私たちは、ゼニゴケが植物として

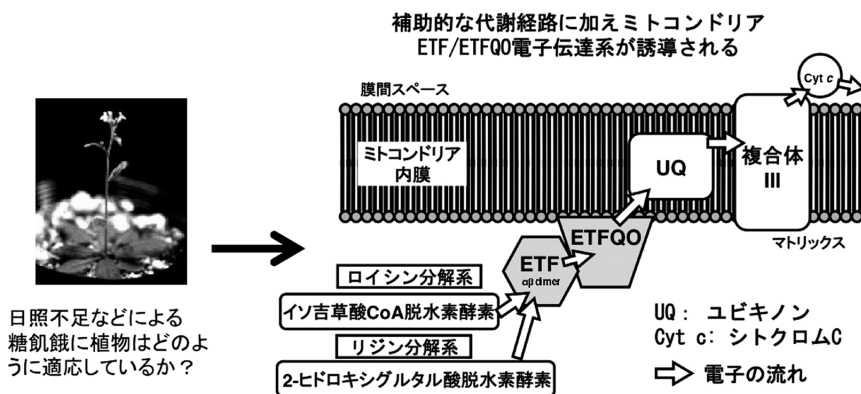


図1 植物の糖飢餓状態におけるETF/ETFQO電子伝達系の機能

植物は糖飢餓条件になると、ETFQOの発現が上昇し、ETF/ETFQO電子伝達系の機能が誘導される。ETFはロイシン分解系のイソ吉草酸CoA脱水素酵素、およびリジン分解系の2-ヒドロキシグルタル酸脱水素酵素の電子受容体である。糖飢餓で誘導されるタンパク質分解から生成されたアミノ酸を呼吸基質とし、ETF/ETFQO電子伝達系を介して、生存に必要なエネルギー(ATP)が生産されると考えられる。

比較的小さな性染色体をもつことに着目し、ゼニゴケを材料として世界に先駆けて植物の性染色体の構造解析を行う成果を上げた。さらに近年、進化的位置づけの重要性から、米国エネルギー省 Joint Genome Institute による全ゲノム解析プロジェクトに採択され、現在までに常染色体を含む全ゲノム解析がほぼ完了している。ゲノム解析に加え、光質による成長相転換制御技術、アグロバクテリウムを介した高頻度形質転換系、選抜マーカーとレポーター遺伝子の開発、葉状体再生断片を用いた形質転換系、T-DNA タグgingを基盤とする順遺伝学アプローチ、相同組換えの原理に基づくジーンターゲット法などの実験基盤を確立した。これまで私たちが開発したゼニゴケの研究基盤を軸に、細胞生物学から発生学まで、陸上植物の生存戦略の成り立ちと進化に着目した研究が国内外に広がりを見せている。

3. ゼニゴケにおける栄養繁殖の分子機構の解析

動物とは異なり植物は、体細胞が分化してもなおさまざまな種類の細胞に分化できる能力、「分化全能性」を有する。この性質に基づき植物は、交配/受精による有性生殖のほかに、栄養器官に分化した体細胞から個体を再生する無性生殖の様式・栄養繁殖を行うものが多い。「交配」を経ずに次世代を増殖することができる栄養生殖は、農業や園芸の分野でも重要な繁殖様式である。しかし、順遺伝学が可能な栄養繁殖のモデル植物がなく、陸上植物における栄養繁殖の詳細なメカニズムについては、ほとんど知見がない。私は、ゼニゴケの分子遺伝学研究基盤を活用し、栄養繁殖機構の研究を進めてきた。ゼニゴケは、受精による有性生殖に加え、栄養成長期に無性芽という組織を分化し多数のクローンを増殖する栄養繁殖を行う(図2a)。これまで無性芽の発生過程において顕著なレベルのオーキシンが杯状体の底部に蓄積することを明らかにした。次に20万株のT-DNA タグラインの選抜から10株のオーキシン低感受性株を単離し、6株において杯状体もしくは無性芽の発生に異常を確認した。それらのうち2株はオーキシン応答を制御する転写活性化因子をコードする *ARF1* の破壊株であることを同定した。*ARF1* の機能欠損変異体では、無性芽におけるメリステムの形成に顕著な異常が認められた。これらのことから、オーキシンの蓄積と *ARF1* を介した転写活性化が無性芽発生プロセスの鍵となることを示唆した(図2b)。本研究で得られた知見は、植物における栄養繁殖の機構解明に貢献するだけでなく、オーキシンを介した転写制御の仕組みが植物の陸上進出の時点で獲得されていたことを示唆している。今後、配偶体優占の生活環をもつゼニゴケにおけるオーキシンの機能について、進化発生学の視点からも研究を深めたい。

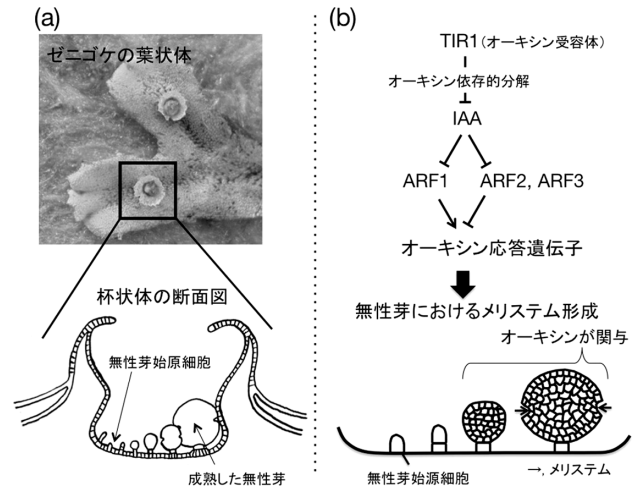


図2 ゼニゴケの栄養繁殖におけるオーキシンの役割

a: ゼニゴケの栄養繁殖。ゼニゴケは、その栄養成長期の植物体(葉状体)の背面に、杯状体と呼ばれる器官を形成し、その中に多数のクローン個体(無性芽)を作る。無性芽が雨水等によって離脱し散布されることでクローン個体が迅速に繁殖する。b: ゼニゴケの栄養繁殖におけるオーキシンの機能モデル。

謝辞 本研究は、京都大学大学院生命科学研究科統合生命科学専攻遺伝子特性学分野で行われたものです。本研究を行う機会を与えていただき、日頃よりご指導ご鞭撻を賜りました京都大学教授・河内孝之先生に深甚なる感謝の意を表します。そして学生時代より温かいご指導をいただいた京都大学名誉教授・大山莞爾先生(残念ながら平成24年9月にご逝去されました)に心より御礼申し上げます。また学生時代より長年にわたり数々の激励とご助言を賜りました福澤秀哉先生(現 京都大学教授)、大和勝幸先生(現 近畿大学准教授)に深謝いたします。同様に多大なご協力をいただきました当研究室の多くの卒業生、在学生、スタッフの方々に心より感謝いたします。ポストドクとして在籍したオックスフォード大学植物科学部(Christopher J. Leaver教授)では、多くの研究成果を得ることができただけでなく、さまざまなことを学ぶことができました。Leaver教授と研究室のメンバーに深く御礼申し上げます。また共同研究者として多大なご協力をいただきましたマックス・プランク研究所のAlisdair R. Fernie博士と研究室の方々に深く感謝いたします。本研究を行うにあたってご協力いただきましたすべての共同研究者の皆様へ厚く御礼申し上げます。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました河内孝之先生ならびにご支援賜りました京都大学大学院農学研究科応用生命科学科の諸先生方に厚く御礼申し上げます。