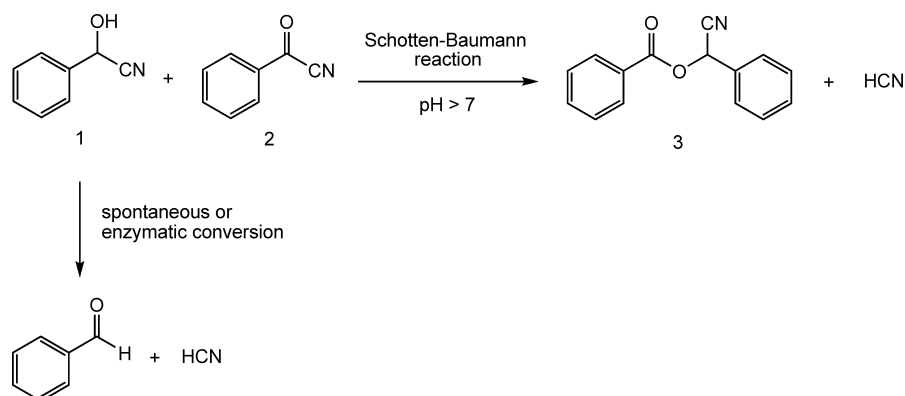




Scheme 2

して揮散させることなく、攻撃を受けた捕食者に対して効率的に取り込ませる機構を有すると推察した。この結果から、オビヤスデ目ヤスデはこれまで、**1**のみから防御物質である青酸を酵素的あるいは自然分解的に生成していると考えられていたが、**1**と**2**を含むヤスデ群はSchotten-Baumann 反応を経て、より効率的に青酸を発生させる新たな防御機構をもつと結論した。しかし、**2**を分泌するグループと分泌しないグループでは化学防御機構のほか、生態学および系統学的にどのような違いがあるかは大きな検討課題である。またヤスデ類において、**1**は植物と同じくフェニルアラニンから誘導されると推測されているが、**2**については生合成過程のどこに位置するか全く不明である。今後、同位体標識前駆体の取り込み実験などを実施して、**1**と**2**の生合成的関係を解明したいと考えている。

最後に、本研究に対して御援助を頂きました(財)農芸化学研究奨励会に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) W. Takada, T. Sakata, S. Shimano, Y. Enami, N. Mori, R. Nishida, Y. Kuwahara, *J. Chem. Ecol.*, **31**, 2403–2415 (2005).
- 2) R. A. Saporito, M. A. Donnelly, R. A. Norton, H. M. Garraffo, T. F. Spande, J. W. Daly, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**, 8885–8890 (2007).
- 3) 清水伸泰, 桑原保正, 日本農芸化学会 2009 年度大会 (福岡).
- 4) A. Bernardi, G. Colombo and C. Scolastico, *Tetrahedron Lett.*, **49**, 8921–8924 (1996).
- 5) 桑原保正, 清水伸泰, 田辺 力, 第 20 回環境動物昆虫学会年次大会 (京都).

植物における構造異性体テトラアミンの特異的認識機構と生理的役割の解明

東北大学大学院生命科学研究科 高橋芳弘

【目的】

ポリアミンは、第 1 級アミノ基を 2 つ以上もつ脂肪族炭化水素の総称であり、代表的なポリアミンとして、ジアミンのプトレシン、トリアミンのスペルミジン、テトラアミンのスペルミンが挙げられる。これらのポリアミンは、植物の胚発生、細胞分裂、形態形成、花器官の発育促進などの生育過程に関与しているばかりでなく、様々な環境ストレス (病気の感染、塩、乾燥など) 耐性にも重要な機能分子であることが示唆されている¹⁾。近年まで、植物体内のテトラアミンはスペルミンのみが知られていた。しかしシロイヌナズナ植物体内には、スペルミンの構造異性体であるサーモスペルミンが存在することが明らかとなり (図 1

A, B), サーモスペルミン合成酵素欠損変異体では、茎の伸長が著しく阻害されることが示唆された²⁾。しかし現状では、植物のスペルミンとサーモスペルミンを分離・定量する技術は確立されておらず、植物体内でこれら二つのテトラアミンの存在量、動態、そして生理機能に関しては不明な点が多い。そこで、スペルミン、サーモスペルミン個別の役割解明を目指し、生体内テトラアミンの分離定量法の確立と生体内存在量、そして、環境ストレスに曝された際の変動から、テトラアミンの生理的役割を探ることを本研究の目的とした。

【結果と考察】

植物体内ポリアミン量の定量には、多くの場合高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる。そこで、HPLC を用いて標品テトラアミンの分離条件を検討し、既知条件を変更することで、二つのテトラアミンを完全に分離する測定条件を確立した。シロイヌナズナ植物体から抽出したポ

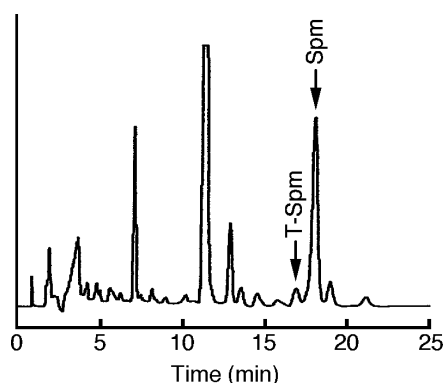
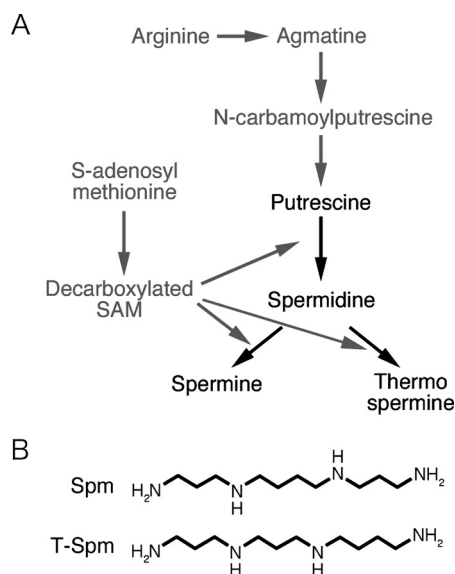


図 2 HPLC を用いたシロイヌナズナ植物体ポリアミンの分離能.

リアミンを本条件下で測定すると、サーモスペルミン及びスペルミンのピークが確認された（図2）。サーモスペルミン、スペルミン標品を用いたクロマトグラフィー及び、各遺伝子欠損変異体サンプルを用いた解析からも、図2に示すピークがサーモスペルミン及びスペルミンを示す単一ピークであることを確認した（データ省略）。そこで、本条件を用いてシロイヌナズナの幼植物体地上部、成熟葉、茎、花器官の計4器官における組織別テトラアミン蓄積量を定量した結果、サーモスペルミンは、茎における含量が幼植物体地上部や成熟葉と比較して顕著に多いことが示された。サーモスペルミン合成酵素遺伝子欠損変異体では茎の伸長が著しく阻害されるが、本結果からも、サーモスペルミンが微量で茎伸長を司る生理的な機能分子であることが示唆された。一方スペルミンは、サーモスペルミンと比較すると生体内存在比がいかなる組織でも5~10倍程度高く、植物体内の主たるテトラアミンであった。また、ポリア

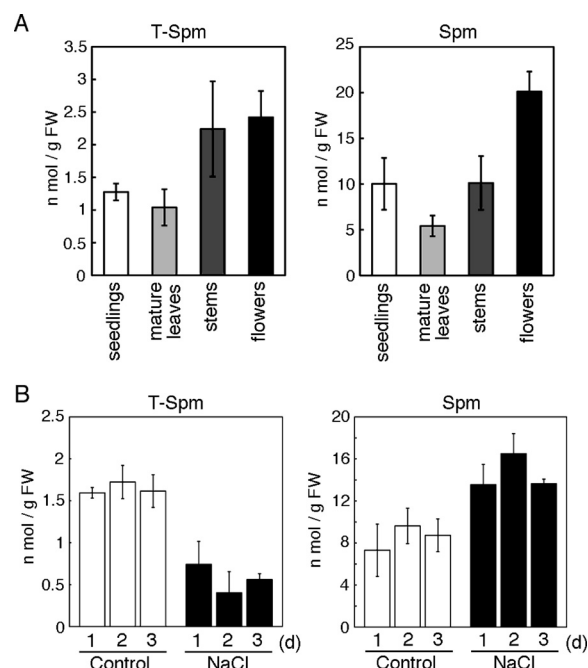


図3 シロイヌナズナ植物体組織別スペルミン、サーモスペルミン蓄積量(A)と、塩ストレス条件下におけるスペルミン、サーモスペルミン量の変動(B).

ミンの生理機能の一つに花器官の発育促進が挙げられるが、本研究からも、スベルミン、サーモスベルミン問わず花器官での蓄積量は顕著に高いことが確認された(図3A)³⁾。

我々は以前、テトラアミン合成酵素遺伝子欠損シロイソナズナ植物体は塩ストレスに対して超感受性となり、外部からスベルミンを投与することで、塩感受性が野生型と変わらないレベルまで回復することを確認している⁴⁾。そこで、塩ストレス条件下でのテトラアミンの変動を調査した結果、塩ストレスによって、サーモスベルミン蓄積量は低下する一方、スベルミン蓄積量は顕著に増加することが示された(図3B)³⁾。これらの結果から、サーモスベルミンは茎伸長に、スベルミンは塩ストレスを含む環境ストレス耐性に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

今後、より詳細な解析を継続し、二つのテトラアミンの個別認識機構や、さらなる生理的役割を明らかにすることで、茎伸長を自在に制御すること、そして、環境ストレスに強い植物体を作成する手がかりとなるかもしれない。

最後に、本研究を遂行するにあたり、研究奨励金を賜りました財団法人農芸化学研究奨励会に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Kusano, T., Berberich, T., Tateda, C. and Takahashi, Y. *Planta*, **228**: 367–381 (2008).
- 2) Kakehi, J., Kuwashiro, Y., Niitsu, M. and Takahashi, T. *Plant Cell Physiol.* **49**: 1342–1349 (2008).

3) Naka, Y., Watanabe, K., Sagor, G.H.M., Niitsu, M., Pillai, M.A., Kusano, T. and Takahashi, Y. Plant Physiol. Biochem. (in press).

4) Yamaguchi, K., Takahashi, Y., Berberich, T., Imai, A., Miyazaki, A., Takahashi, T. and Kusano, T. FEBS Lett. 580: 6783–6788 (2006).

コレステロール代謝酵素 *Neverland* の脊索動物における機能の解明

筑波大学大学院 生命環境科学研究科

「次代を担う若手大学人育成イニシアティブ」 丹羽隆介

【背景と目的】

多細胞生物においてコレステロールは、脂質やステロイドの原料として必須であり、その代謝調節が適切に行われることは極めて重要である。そして、体内のコレステロール代謝の異常は、ヒトにおいては様々な疾患をもたらす。例えば、コレステロールの過剰摂取は、肥満や動脈硬化などの生活習慣病の発症に大きな影響を及ぼす。よって、生体内におけるコレステロール動態制御機構の解明は、基礎と応用の両面から重要な課題である。

我々のグループは、昆虫ステロイドホルモンであるエクジソンの生合成に関わる新規遺伝子 *neverland* (*nvd*) の解析の過程で、この分子がコレステロール代謝に関与することを明らかにした (図1)¹⁾。 *nvd* は、Rieske ドメインと呼ばれる電子伝達を担うモチーフを持つ酵素をコードしている (図2)。現在までに我々は、昆虫の *Nvd* タンパク質がエクジソン生合成過程におけるコレステロールの7,8位の脱水素化 (図1, 丸点線) を担い、7-デヒドロコレステロール (7dC) の生成に必須の役割を果たすことを明らかにした (投稿準備中)。

nvd は、コレステロール代謝の進化を考える上で、保存性と多様性の両面から興味深い遺伝子ファミリーである。*nvd* は昆虫のみならず、エクジソンを持たない線虫類、棘皮動物から鳥類までの後口動物にも高度に保存されている¹⁾。また、アメリカのグループによって、*C. elegans* の *nvd* も、コレステロール代謝を通じたステロイドホルモン産生と個体発生に必須であることが示されている²⁾。すなわち、*nvd* はエクジソン合成に留まらず、動物界を越えてコレステロール代謝制御に関わり、その代謝経路は発生過程に必須な機能を持つことが強く示唆される。一方で、現在までに利用可能な哺乳類ゲノム情報からは、*nvd* は見つからない。このことは、同じ動物界においてもコレステロール代謝制御には分子レベルの多様性が存在し、哺乳類においては *nvd* は何らかの理由によって失われたことを示唆する。しかしながら、*nvd* の脊索・脊椎動物での生体内機能および進化的特徴の意義は、現在のところ全く明

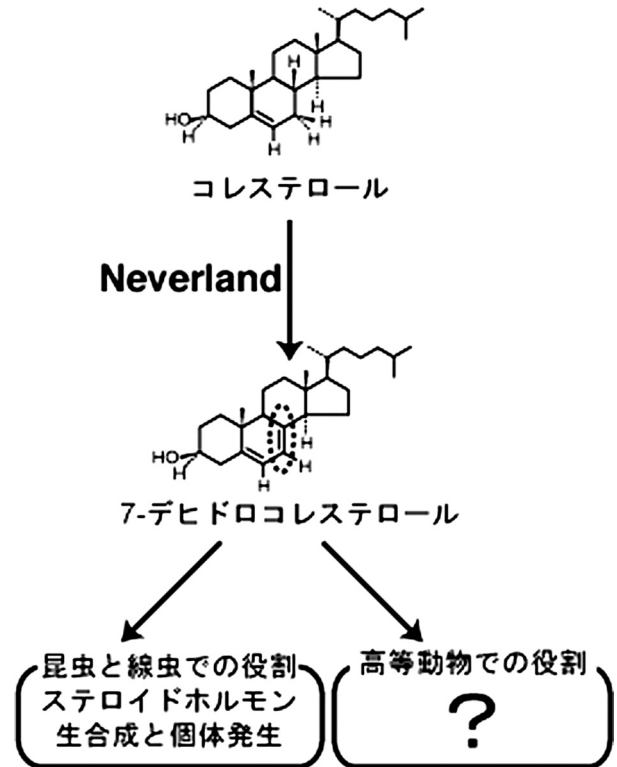


図1 *Neverland* の機能の模式図。

らかにされていない。

そこで本研究は、高等動物における *nvd* ファミリーの機能を探る第一歩として、脊索・脊椎動物の *nvd* ファミリーの遺伝子産物の生化学的性状の分析、発生過程における発現プロファイルの解析、および機能低下個体における表現型の検討を行った。このために、モデル生物として広く認知されているカタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* とゼブラフィッシュ *Danio rerio* を利用した。

【結果】

1) カタユウレイボヤおよびゼブラフィッシュの *Nvd* は、コレステロール代謝活性を有する

公開されているゲノム情報を利用して、カタユウレイボヤから2つ、およびゼブラフィッシュから1つの *nvd* オークログを見出した。そこでまず、アノテーション情報を元にして個々の分子の open reading frame 領域を増幅するプライマーを作製し、初期胚由来の mRNA から合成した逆転写物を鋳型とし、個々の遺伝子をクローニングした。増幅産物については全塩基配列を決定し、カタユウレ