

# 植物細胞分化におけるオルガネラの可逆的機能転換の分子機構

## Molecular Mechanisms of Reversible Transformation of Organelles in Differentiation of Higher Plant Cells

（研究プロジェクト番号：JSPS-RFTF 96L00407）

プロジェクトリーダー

西村 幹夫 岡崎国立共同研究機構基礎生物学研究所・教授

コアメンバー

西村いくこ 京都大学大学院理学研究科・教授

野口 哲子 奈良女子大学理学部・教授

林 誠 基礎生物学研究所・助教授

加藤 朗 新潟大学理学部・助教授

嶋田 知生 京都大学大学院理学研究科・助手



### 1. 研究目的

植物細胞分化の柔軟性を明らかにするため、液胞とマイクロボディという2種の単膜オルガネラの可逆的な分化に働く分子機構を解明する。

- (1) 液胞とプロテインボディの相互変換の分子機構（西村いくこ、野口哲子、嶋田知生）
- (2) 光による可逆的マイクロボディ機能転換の分子機構（西村幹夫、林誠、加藤朗）

液胞タンパク質の機能発現を担う鍵タンパク質である。シロイヌナズナには3種のVPE遺伝子が存在( , , )する。VPEは種子にのみ発現し、種子貯蔵タンパク質の成熟化に働くこと、VPEは老化組織で発現しプログラム細胞死に関与していることが示された。VPEは細胞死を起こす細胞の液胞中に誘導される加水分解酵素の活性化に働くと考えられる。

### 2. 研究成果概要

#### 2.1 液胞とプロテインボディの相互変換の分子機構

- A) 種子の登熟過程においてプロテインボディは液胞から出芽することにより生じ、発芽過程においてはプロテインボディが相互に融合することにより液胞化していくことが判明した。この結果プロテインボディは液胞の一種であり、貯蔵タンパク質の蓄積を担う貯蔵型の液胞であることが明らかとなり、液胞とプロテインボディの変換は液胞機能分化に伴い直接的に生じる現象であることが判明した。
- B) 種子貯蔵タンパク質の細胞内輸送に働く特異的な輸送小胞を同定し、この小胞が貯蔵タンパク質前駆体を多量に含んでいることから Precursor accumulation vesicle (PAC vesicle) と命名した(図1)。また、その成分の解析から貯蔵タンパク質レセプター PV72 を同定した。この研究の中で、PAC vesicle はER から出芽し形成されることからゴルジ体非依存的な小胞輸送経路の存在を示した点で特筆される。
- C) 種々の液胞タンパク質の成熟化を担う液胞プロセシング酵素 (VPE) を同定した。V は新規のシステインプロテアーゼであり、多くの液胞タンパク質が VPE によって成熟化される。VPE 自身も不活性前駆体として合成され、その成熟化、活性化は VPE 自身により触媒されるので、VPE は

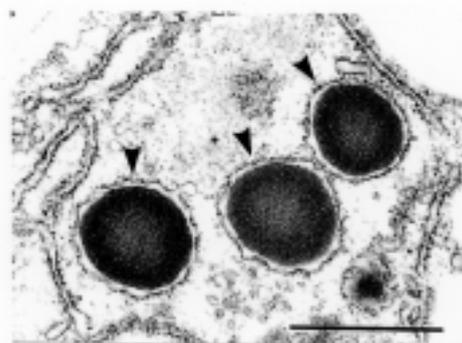


図1 カボチャ登熟種子中の PAC vesicle

#### 2.2 光による可逆的マイクロボディ機能転換の分子機構

- A) 脂肪酸の分解に働くグリオキシソームが光があたると光合成に関与する緑葉ペルオキシソームに変換すること、その後植物が暗所で老化していく際には逆の機能変換、即ち緑葉ペルオキシソームからグリオキシソームの変換が生じることが判明し、これらの機能変換が可逆的であることを示した。
- B) マイクロボディの機能変換は遺伝子発現、タンパク質の輸送及び分解の各段階で調節されていること、更に新たな調節系として mRNA スプライシングが光依存的に変化することが判明した。
- C) マイクロボディの変換に働く調節機構を明らかにする上で、遺伝学的方法是非常に有効である。私達は 2, 4-ジクロロフェノ

キシ酪酸(2,4-DB)に耐性をもつシロイヌナズナ変異株を単離した。通常2,4-DBは脂肪酸の分解により除草剤2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)に代謝される。そのため2,4-DB耐性変異株は脂肪酸の分解に異常を生じており、マイクロボディ機能を欠損していることが予想される。*ped1*, *ped2*, *ped3*と名付けた3種の変異株のうち*ped1*変異株は脂肪酸分解に働くチオラーゼ遺伝子が欠損しており*ped2*変異株はチオラーゼのマイクロボディへの輸送に欠損が生じていた。その原因遺伝子はPex14pをコードしており、このタンパク質はマイクロボディタンパク質の輸送の鍵タンパク質であった。又*PED3*遺伝子は新規のATP結合カセット(ABC)トランスポーターをコードしていた。これらの変異株は異常なマイクロボディを有し、その形態も野生株とは大きく異なっていた。(図2)

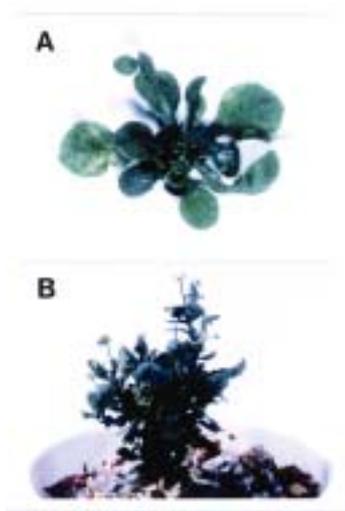


図2 シロイヌナズナの *ped1* / *ped3* 二重変異株 *ped1/ped3* 二重変異株は葉がねじれており、その形態もかわっている(A)。同変異株は野生株に比べてわい性であり、その外観も大きく異なっている(B)。

### 3. 結論

高等植物分化の特徴を生じさせる可逆的なオルガネラ分化に働く鍵成分として、PAC小胞、VPE、PV72、Pex14p、ABCトランスポーター等を同定した。これらの鍵成分の解析から高等植物の分化の柔軟性に関する調節機構が明らかとなってきている。

### 主な発表論文

- (1) M. Hayashi, K. Toriyama, M. Kondo and M. Nishimura: "2,4-Dichlorophenoxybutyric acid-resistant mutants of *Arabidopsis* have defects on glyoxysomal  $\beta$ -oxidation," *Plant Cell*, 10 (1998) 183-195
- (2) I. Hara-Nishimura, T. Shimada, K. Hatano, Y. Takeuchi and M. Nishimura: "Transport of storage proteins to protein-storage vacuoles is mediated by

large precursor-accumulating vesicles," *Plant Cell*, 10 (1998) 825-836

- (3) H. Hayashi, L. De Bellis, A. Ciurli, M. Kondo, M. Hayashi and M. Nishimura: "A novel oxidase that catalyzes oxidation of short-chain acyl CoA in plant peroxisomes," *J. Biol. Chem.*, 274 (1999) 12715-12721
- (4) M. Hayashi, K. Nito, K. Toriyama-Kato, M. Kondo, T. Yamaya and M. Nishimura "AtPex14 maintains peroxisomal functions by determining protein targeting to three kinds of plant peroxisomes," *EMBO J.*, 19 (2000) 5701-5710
- (5) K. Koumoto, T. Shimada, M. Kondo, I. Hara-Nishimura and M. Nishimura: "Chloroplasts have a novel Cpn10 in addition to Cpn20 as co-chaperonins in *Arabidopsis thaliana*," *J. Biol. Chem.*, 276 (2001) 29688-29694
- (6) N. Mitsuhashi, Y. Hayashi, Y. Koumoto, T. Shimada, T. Fukasawa-Akada, M. Nishimura and I. Hara-Nishimura: "A novel membrane protein that is transported to protein storage vacuoles via precursor-accumulating vesicles," *Plant Cell*, 13 (2001) 2361-2372