

二国間交流事業 共同研究報告書

平成23年4月1日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 京都大学・大学院生命科学研究科

職・氏名 ^(ふりがな) 教授・佐藤 文彦 ^{さとう ふみひこ}

1. 事業名 相手国(フランス)との共同研究 振興会対応機関(仏国外務省)
2. 研究課題名 植物体におけるオートファジーならびに窒素の転流制御におけるTORキナーゼの役割
3. 全採用期間

平成 21 年 4 月 1 日 ~ 平成 23 年 3 月 31 日 (2 年 ヶ月)

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 1,800 千円

初年度経費 1,000 千円、 2年度経費 800 千円、 3年度経費 0 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 0 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
さとう ふみひこ 佐藤 文彦	京都大学・生命科学研究科・教授	タンパク質分解酵素の老化における役割の 解明
おおすみ よしのり 大隅 良典	東京工業大学 統合研究院 フロン ティア研究機構・特任教授	酵母オートファジーの分子機構の解明
よしもと こうき 吉本 光希	独立行政法人 理化学研究所 植物 科学研究センター 植物免疫研究 グループ・研究員	植物オートファジーの分子機構・生理的役割 の解明

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 Institut Jean-Pierre Bourgin UMR1318 INRA-AgroParisTech・Associate group leader・Céline Masclaux-Daubresse

(3) 相手国参加者（代表者の氏名の前に○印を付すこと）

氏名	所属・職名（国名）	研究協力テーマ
○ Céline Masclaux-Daubresse	Institut Jean-Pierre Bourgin (IJPB) UMR1318 INRA-AgroParisTech・ Associate group leader (France)	Role of autophagy in nitrogen recycling and remobilization in plants
Christian Meyer	IJPB UMR1318, INRA-AgroParisTech・ Group leader (France)	Regulation of ATG proteins by TOR
Anne Guiboileau	IJPB UMR1318, INRA-AgroParisTech・Ph D student (France)	Nitrogen remobilization efficiency of ATG, mutants and regulation of ATG proteins by TOR
Rodnay Sormani	IJPB UMR1318 INRA-AgroParisTech・ Post-Doc (France)	Regulation of ATG proteins by TOR

6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

研究の目的

老化する植物体における窒素の再利用と転流に関してオートファジー（自食作用）関連タンパク質（ATG）ならびに CND41 に代表されるタンパク質分解酵素の役割、ならびに同過程における TOR (Target of Rapamycin) kinase の役割を解明することを目的とする。

研究の内容

- 1) 京都大学では、主に、ATG、CND41 RNAi抑制株の窒素欠乏に対する応答を生化学的ならびに遺伝子発現の観点から解析した。
- 2) フランス INRA、理化学研究所ならびに東京工業大学においては、植物の老化過程でみられる窒素の再利用と転流におけるオートファジーの役割を明らかにするために以下の実験を行った。
 - ①富栄養・貧栄養条件下で生育させた野生型植物とオートファジー能欠損植物からサンプリングしたRNAを用いたマイクロアレイによる網羅的トランスクリプトーム解析。
 - ②TOR-RNAi発現抑制株ならびにTOR-過剰発現株におけるオートファジーの可視化。
 - ③野生型植物とオートファジー不能植物を用いたメタボローム解析・窒素転流の解析。

研究の成果

- 1) ATG、CND41 RNAi 抑制株の芽生えを用いた3-5日の窒素飢餓により老化の誘導と植物体中の主要有機態である光合成酵素 Rubisco の分解が起こること、ATG ならびに CND41 RNAi 発現抑制体ではその分解の抑制が起こることを再解析し、その結果を Nitrogen2010 国際会議において口頭発表するとともに、来日したフランス側研究者と研究討論を行った。現在、論文を取りまとめている。また、より栄養飢餓ならびに阻害剤処理が容易であり、かつ、光合成遺伝子を発現しているシロイヌナズナ光独立栄養培養細胞系を確立した。
- 2) ①野生型植物とオートファジー能欠損植物との遺伝子発現の違いをマイクロアレイ解析し、オートファジー不能植物で2倍以上発現量が増大している約250遺伝子および発現量が低下している約50遺伝子を同定した。
 - ②TOR-RNAi 発現抑制株ならびに TOR-過剰発現株におけるオートファジーの可視化を検討し、液胞型 ATPase 阻害剤・コンカナマイシン A 処理によるオートファジックボディーの観察によって、植物でも TOR kinase がオートファジーを負に制御しているという良好な結果を得た。
 - ③野生型植物とオートファジー不能植物を用いたメタボローム解析を行い、オートファジー不能植物で2倍以上増大した代謝産物を約60種類、減少した代謝産物を約50種類同定した。今後は網羅的トランスクリプトーム解析のデータと比較することで、窒素の再利用と転流におけるオートファジーの役割を分子レベルで明らかにする予定である。また、安定同位元素 N15 を用いた窒素の転流の解析結果、オートファジーが葉の窒素源の分解とその種子への転流に重要な働きを持っていることを示唆する結果を得た。現在、論文を投稿準備中である。