



研究課題名 植物の栄養感知機構の解明と栄養応答統御

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授

ふじわら とおる
藤原 徹

研究課題番号：19H05637 研究者番号：80242163

キーワード：リボソーム、細胞膜、細胞壁、無機栄養、成長制御、モデル解析

【研究の背景・目的】

施肥は歴史的に食料増産に貢献し、現代農業においても十分な収量を得るために不可欠であるが、その一方で環境汚染や資源枯渇が問題となってきた。このような状況となった原因の一つは作物の栄養吸収能に限度があり、施肥により土壌の栄養濃度を高めなければ良好な作物生産が得られないということである。

植物は進化により不良栄養環境に対する高い適応能力を獲得し低栄養条件に耐える様々な能力を持つが、その能力には限界がある。不良栄養環境に対する適応能力を強化することで、低投入の農業を実現する可能性が考えられるが、そのためには低栄養に耐える適応・反応機構の理解が重要である。

栄養条件に応じた反応が起こるためには、植物が栄養濃度を感知することが不可欠である。栄養濃度の感知に基づき栄養輸送、代謝制御、成長制御が協調して起こり、個体全体としての適応反応を示す。これまでの研究から栄養の感知は細胞内（細胞質）、細胞膜、細胞壁で起こりうる事が明らかになってきており、本研究では植物の無機栄養の植物細胞の異なる画分での栄養感知機構の解明と感知後に起こる様々な下流の栄養適応現象を定量的統合的に理解することを目的としている。

【研究の方法】

栄養の感知と応答は栄養濃度を感知する生体物質の化学変化とそれに伴って起こる連鎖反応によって起こる。細胞質における栄養感知は翻訳過程で起こることをホウ素輸送体をコードする *NIP5;1* で見出ししており（図1、Tanaka et al 2016）、本研究では翻訳を担うリボソームの構造解析や栄養との相互作用で影

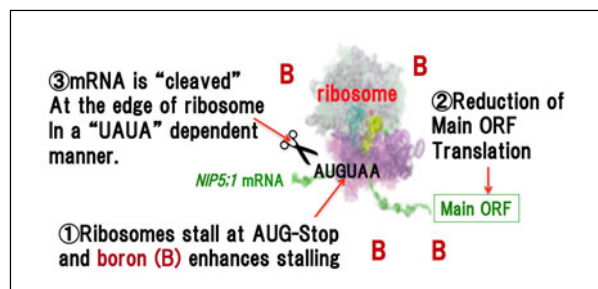


図1 *NIP5;1* のホウ素による制御

響を受ける翻訳段階の解明等を進めていく。また、感知に伴って起こる現象の解析としては、**ribosome profiling** を利用した翻訳制御の網羅解析や成長に及ぼす影響を検討する。

栄養感知の場としては細胞質以外にも細胞膜や細胞壁が考えられ、輸送体タンパク質や細胞壁多糖と栄養との相互作用や、相互作用がもたらす、組織内の栄養分布、輸送体などの遺伝子発現や生育に及ぼす影響を解析し、栄養感知の場の違いによる反応の違いや成長に及ぼす影響をモデル解析なども用いて明らかにしていく。

【期待される成果と意義】

栄養感知については、その重要性が指摘されてきたものの具体例は少なく、本研究は栄養感知機構の構造的解明とその下流の様々な栄養適応現象を細胞質、細胞膜、細胞壁に分けて理解しようとするものであり、世界的に例の無い研究であると考えている。

栄養感知とそれに伴う幅広い現象の理解は、植物の低栄養条件での応答を変化させ、低栄養条件での生育の改善につながる可能性があり、今後の持続的農業の実現のための技術開発に繋がるものであると考えている。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Tanaka, M., Sotta, N., Yamazumi, Y., Yamashita, Y., Miwa, K., Murota, K., Chiba, Y., Hirai, MY., Akiyama, T., Onouchi, H., Naito, S. & Fujiwara, T. "The Minimum Open Reading Frame, AUG-Stop, Induces Boron-Dependent Ribosome Stalling and mRNA Degradation" *Plant Cell* 28: 2830–2849 (2016) doi: org/10.1105/tpc.16.00481.
- Sotta, N., Duncan, S., Tanaka, M., Sato, T., Marée, A. F., Fujiwara, T., & Grieneisen, V. A. "Rapid transporter regulation prevents substrate flow traffic jams in boron transport." *eLife* 6:e27038 (2017) doi: 10.7554/eLife.27038

【研究期間と研究経費】

令和元年度～令和5年度
153,900 千円

【ホームページ等】

<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/syokuei/>



研究課題名 植物細胞の脂質分泌の鍵をにぎるバルク輸送マシナリーの分子基盤

京都大学・生存圏研究所・教授 **やざき かずふみ**
矢崎 一史

研究課題番号：19H05638 研究者番号：00191099

キーワード：脂質分泌、植物細胞、バルク輸送、二次代謝、シコニン

【研究の背景・目的】

植物は、表皮細胞から細胞外に分泌するワックスやスベリンといった脂溶性ポリマーだけでなく、モノテルペン類やタキソールなど、脂溶性で生理活性の高い数多くの二次代謝産物を特定の細胞から細胞外に分泌し、アポプラスト（細胞外スペース）に蓄積する。しかし、水に溶けない物質を含有した脂質一重膜の油滴が、どのようなメカニズムで水を主とするサイトゾルを細胞膜に向けて移動し、細胞を殺すことなく分泌されるのか、その分子メカニズムは依然として未知のままである。

本研究では、上記の学術的「問い」に対して、解答を与えられるモデル系として、ムラサキの培養細胞におけるシコニン分泌系を用いる。この細胞は重量あたり10%を超える脂溶性物質のシコニン誘導体を細胞外に分泌する。我々は、植物細胞からの脂質のバルク輸送を司る輸送マシナリーの構成メンバーの同定と、輸送メカニズムの分子機構を明らかにすることを目的とする。

【研究の方法】

本研究では、脂質分泌の分子機構の解明に好適なモデル系として、ムラサキの培養細胞におけるシコニン分泌系を用いる重量ベースで10%を超える脂溶性物質のシコニンを細胞外に分泌する系を用い、植物細胞からの脂質のバルク輸送を司る輸送マシナリーの構成メンバーの同定と、輸送メカニズムの分子機構を明らかにする計画を立てた。

その推進のため、まずオミックス研究からリストアップされた脂質輸送関連遺伝子とそれぞれの遺伝子産物の細胞内膜局在の解析から、脂質分泌に深く関与する有力候補を絞り込む。次いで、個々の遺伝子の機能解析は、一過的遺伝子抑制系である

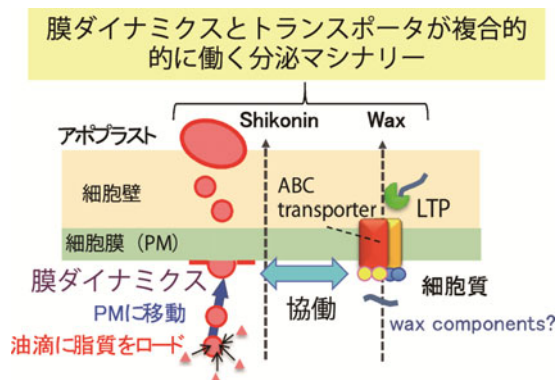


図1 脂質のバルク輸送機

virus-induced gene silencing (VIGS) 系において行い、シコニン生産蓄積に対する寄与を指標に優先順位をつけ、順次毛状根による安定形質転換体系によるゲノム編集ラインを作成する。これらについて透過型電子顕微鏡を用いて、シコニン分泌阻害時の細胞内膜構造の解析を行う。これと並行して、蛍光タンパク質を用いた膜タンパク質とシコニン分子のダイナミクスを追跡し、脂質の細胞外分泌過程に関与する分子の働きを明らかにする。さらに、各タンパク質同士の相互作用解析を行い、輸送マシナリーの全体像の解明を目指す。

【期待される成果と意義】

植物は、様々な脂溶性低分子化合物を、油腺や分泌キャビティー（空隙）といった細胞外の空間に高蓄積しているが、水に溶けない化合物がどのようにして生産細胞から外に分泌されるのか、その分子機構に関してはほとんど解明されていない。本研究により、脂質分子の分泌機構が明らかにされることで、地上植物の生存戦略が正確に理解でき、また香気成分のモノテルペンや、抗癌剤のビンクリスチンやパクリタキセルなど有用物質の生産技術の開発につながる事が期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Bowman JL, et al., Insights into land plant evolution garnered from the *Marchantia polymorpha* genome, *Cell*, 171(2): 287-304.e15 (2017).
- Tatsumi, K., et al., Characterization of shikonin derivative secretion in *Lithospermum erythrorhizon* hairy roots as a model of lipid-soluble metabolite secretion from plants, *Frontiers Plant Sci.* 7, 1066 (2016).
- Morita, M., et al., Vacuolar transport of nicotine is mediated by a novel multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter in *Nicotiana tabacum*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 2447-2452 (2009).

【研究期間と研究経費】

令和元年度～令和5年度
127,400千円

【ホームページ等】

<http://www.rish.kyoto-u.ac.jp/lpge/index.html>
yazaki@rish.kyoto-u.ac.jp



研究課題名 真菌における一酸化窒素の統合的理解と育種・創薬への応用

奈良先端科学技術大学院大学・先端科学技術研究科・教授

たかぎ ひろし
高木 博史

研究課題番号：19H05639 研究者番号：50275088

キーワード：一酸化窒素、酵母、糸状菌、合成制御機構、生理機能

【研究の背景・目的】

一酸化窒素 (NO) はシグナル分子として様々な生命現象に関与し、哺乳類ではアルギニンから NO 合成酵素 (NOS) により生成する。一方、高等生物のモデルとして、また発酵産業において重要な酵母 *Saccharomyces cerevisiae* では、ゲノム上に哺乳類 NOS のオルソログが存在せず、NO の研究は進んでいない。

我々は、酵母において NO が Tah18 タンパク質依存的な NOS 活性により合成され、銅代謝関連転写因子 Mac1 の活性化を介して高温ストレス耐性に寄与することを見出した。また、Dre2 タンパク質が Tah18 依存的な NO 合成を阻害すること、酸化ストレスに応答して Tah18-Dre2 複合体が解離することを示し、新規 NO 合成制御機構を提唱した。さらに、NO の機能二面性 (細胞保護、細胞死) も明らかにした (図 1)。

本研究では真菌 (酵母・糸状菌) に共通すると考えられる NO の分子機能について、Tah18 依存的合成とその制御、標的タンパク質・シグナル伝達系、機能二面性を中心に統合的理解を目指す。また、NO が産業酵母の発酵生産性に及ぼす影響、糸状菌における NO と増殖、感染、生理活性物質生産との関連を検証し、産業酵母の育種や抗真菌剤の開発に資する。

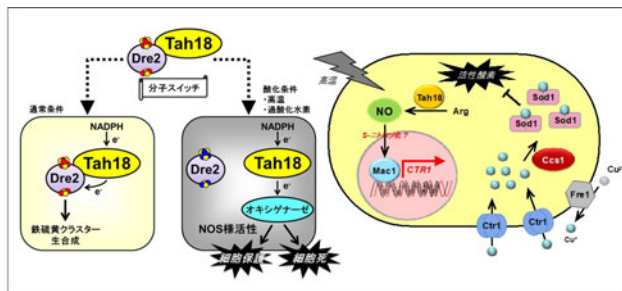


図1 酵母におけるNOの合成 (左) とNOによるストレス耐性 (右) モデル

【研究の方法】

1) NO の分子機能 (合成制御機構、生理機能) の解明: Tah18 タンパク質が関与する NO の合成機構に着目し、Tah18 依存的な NOS 活性発現機構の解析 (オキシゲナーゼ様タンパク質の同定)、Dre2 タンパク質による NOS 活性制御機構の解析、哺乳類の Tah18, Dre2 オルソログ (Ndor1, Ciapin1) の機能解析などを行う。また、シグナル分子としての NO に着目し、NO の標的タンパク質 (S-ニトロソ化・ニトロ化) および NO に応答する新規なシグナル伝達系の同定と解析を行い、表現型との関連を明らかにする。また、NO による細胞死誘導機構を解析し、NO の機能二面性 (細胞保護、

細胞死) の分子機構と生理的意義を理解する。
2) 産業酵母における NO の機能解明と発酵生産への応用: 産業酵母 (パン、清酒、バイオエタノール) の NO 関連遺伝子の発現改変株 (過剰発現、抑制、破壊) を作製し、NO が発酵特性に及ぼす影響を解析するとともに、発酵生産性向上株の育種を試みる。
3) 糸状菌における NO の機能解明と創薬標的分子の探索: モデル糸状菌および病原糸状菌における NO の分子機能、特に NO 関連遺伝子のオルソログ、二次代謝制御や耐性機構に着目し、NO が増殖、感染、生理活性物質生産などに及ぼす影響を解明するとともに、抗真菌薬の標的遺伝子を同定する。

【期待される成果と意義】

1) NO に関する基盤的知見の蓄積: 真菌が多様な環境での生存戦略として獲得した NO の分子機能の理解に資する。また、高等生物のモデルである真菌の研究から、NO が関与するヒト疾病の発症機序、植物における NO 生成機構の解明などに繋がる。
2) 産業酵母・糸状菌への応用: NO 合成を制御することで、発酵環境下で様々なストレスに曝されている産業酵母の発酵生産性の向上が期待できる。また、ヒト病原糸状菌における NO の分子機能や二次代謝制御機構を解明することで、新しい抗真菌剤の開発、生理活性物質の発見に繋がる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Yoshikawa Y, *et al.* Regulatory mechanism of the flavoprotein Tah18-dependent nitric oxide synthesis and cell death in yeast. *Nitric Oxide*, **57**, 85-91 (2016).
- Nasuno R, *et al.* Nitric oxide-mediated antioxidative mechanism in yeast through the activation of the transcription factor Mac1. *PLoS One*, **9**, e113788 (2014).
- Zhou S, *et al.* NO-inducible nitrosothionein mediates NO removal in tandem with thioredoxin/ *Nat. Chem. Biol.*, **9**, 657-663 (2013).

【研究期間と研究経費】

令和元年度—令和5年度
153,800 千円

【ホームページ等】

<https://bsw3.naist.jp/takagi/takagi-j.html>
hiro@bs.naist.jp



研究課題名 革新的化学遺伝学による内在性代謝物の新機能の解明と応用

理化学研究所・環境資源科学研究センター・グループディレクター

よしだ みのる
吉田 稔

研究課題番号：19H05640 研究者番号：80191617

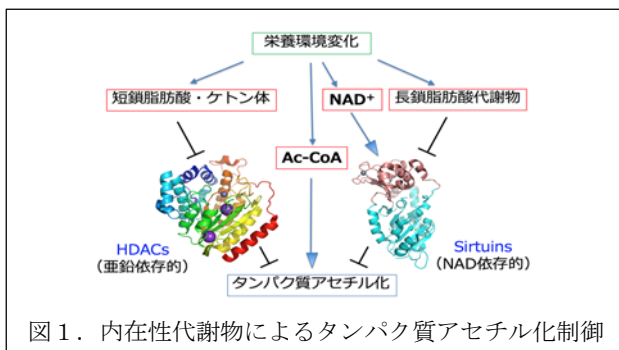
キーワード：内在性代謝物、化学遺伝学、創薬標的分子、翻訳後修飾、代謝フェロモン

【研究の背景・目的】

多くの代謝物は、本来の代謝系での役割とは独立にタンパク質翻訳後修飾酵素の補因子や阻害剤として働くことで生体の機能を変換する(図1)。すなわち、ごくありふれた代謝物やその中間体が思わぬ活性を持ち、それらが周囲の環境変化によって量的変動し、適応や恒常性変化を通じて生命体の運命に大きく関わる可能性が現れてきた。近年、質量分析技術の進歩により、代謝物を網羅的に解析するメタボロームが容易になり、様々な代謝物の変動が理解できるようになってきたが、個々の代謝物の機能については、単離して活性を測定する必要があり、これまで組織的な研究は行われてこなかった。そこで本研究は、分子生物学と化学遺伝学手法を組み合わせるによって代謝物の新機能を解明することを目的とする。

【研究の方法】

本研究では分裂酵母と動物細胞を材料に、(1) エネルギー代謝、(2) 低酸素応答、(3) アミノ酸代謝、(4) 脂質代謝のそれぞれについてスクリーニングによって得られた独自の材料を使って代謝物の新機能発見に迫る。なお、本研究を進めるのに重要な内在性代謝物ライブラリーについては、すでに収集を進めているが、さらに拡充する。



(1) エネルギー代謝の化学遺伝学：我々は SIRT2 に脱長鎖アシル化酵素活性が存在することを見だし、その際新たに大きな疎水性ポケットが形成され、アシル化リジンを取り込んで反応が進むことを明らかにしたが、一旦脱長鎖アシル化反応を行った後は、脱アセチル化が阻害され、脱長鎖アシル化反応のみをもつことがわかった。これは、生成物である O-アシル-ADP リボースが疎水性ポケットに結合して脱アセチル化を阻害する一方、長鎖アシル化基質はこ

れを酵素から追い出して反応することが示唆された。そこで本研究では化学合成した O-アシル-ADP リボース誘導体等を用いその分子機構を解明する。また、がん細胞のワールブルグ効果を抑制し、呼吸の活性化を誘導する天然物誘導 (TLAM) の作用機序を解明する。(2) 低酸素応答の化学遺伝学：翻訳因子 eIF5A の翻訳後修飾ハイブシン化が酸素濃度によって制御されることを酵素レベルで検証する。さらに、低酸素下のハイブシン不全によってなぜミトコンドリアタンパク質の翻訳が選択的に抑制されるのか、最新技術であるリボソームプロファイリングを用いて解明する。(3) アミノ酸代謝の化学遺伝学：窒素カタボライト抑制 (NCR) を解除する新規フェロモンの発見経緯に基づき、野生株コロニーの周辺でのみ適応生育するアミノ酸等の生合成変異株を探索し、新たな低分子シグナル分子を発見する。(4) 脂質代謝の化学遺伝学：分裂酵母のケミカルゲノミクス法によって分裂酵母の生育を抑制する奇数鎖長脂肪酸や海洋微生物由来脂質の感受性を規定する遺伝子を同定し、その作用機序を解明する。

【期待される成果と意義】

栄養環境の変化に伴う細胞内代謝物の変動は、アセチル化などの翻訳後修飾を介して生体機能を調節する。多くの代謝物の隠された機能を明らかにすれば、医療や物質生産などにつながると期待される。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Sun *et al.* Identification of novel secreted fatty acids that regulate nitrogen catabolite repression in fission yeast. *Sci. Rep.* 6: 20856, 2016.
- Ito *et al.* The subcellular localization and activity of cortactin is regulated by acetylation and interaction with Keap1. *Sci. Signal.* 8: ra120, 2015.
- Nishimura *et al.* Marine antifungal theonellamides target 3beta-hydroxysterol to activate Rho1 signaling. *Nat. Chem. Biol.* 6: 519-526, 2010.

【研究期間と研究経費】

令和元年度—令和5年度
154,700 千円

【ホームページ等】

http://www.riken.jp/research/labs/csrs/chem_genom/
<http://www2.riken.jp/SPD/CG/index.html>