

「植物の機能と制御」

平成13年度採択研究代表者

森川 弘道

(広島大学大学院理学研究科 教授)

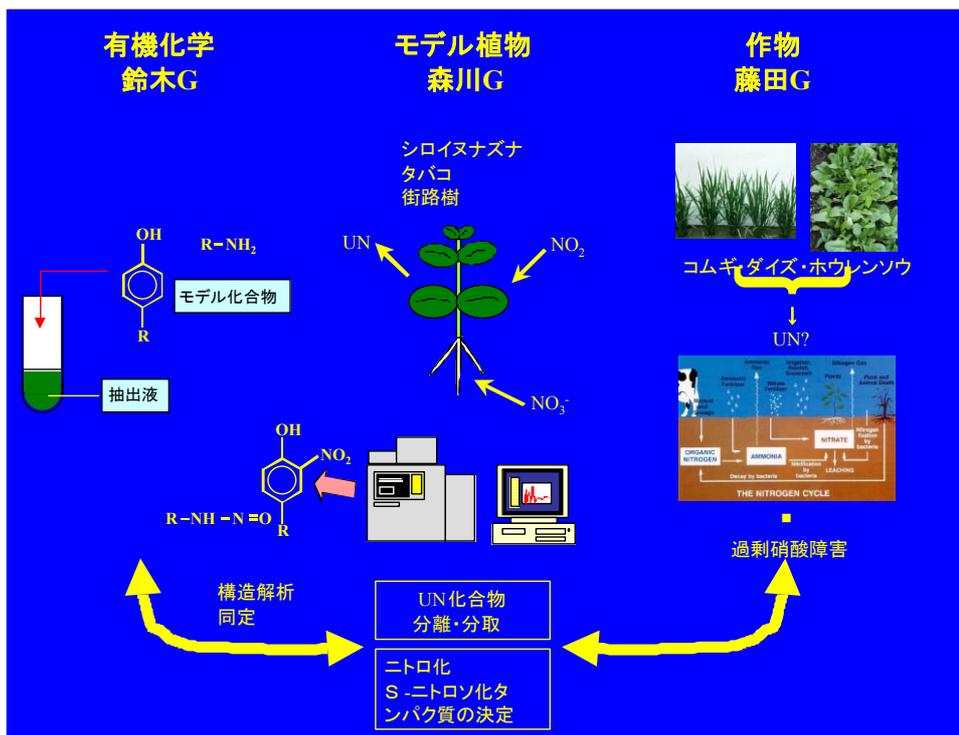
「植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用」

1. 研究実施の概要

植物が取り込んだ二酸化窒素や硝酸イオンに含まれる窒素の約30%は、これまでその代謝が理解されていない様々な物質に変換されている可能性がある。本研究ではこのような未解明窒素化合物の構造と作用の解明を目指す。これまでに、シロイヌナズナ、タバコ、イネのモデル植物、野菜、牧草、街路樹において未解明窒素化合物が生成されることが判明した。植物が取り込んだ窒素の50%以上が未解明窒素化合物となることが分かっている。モデル植物における未解明窒素化合物の構造は次第に明らかになりつつある。このような未解明窒素化合物は、環境汚染 (pollutants) の一因となる可能性のみならず、食や飼料の安全 (safety)、品質 (quality) や味 (taste) と重要な関連を持つ可能性もあり、今後、これらを含め植物が作る未解明窒素化合物の構造と作用の解明に迫る計画である。

2. 研究実施内容

下図に示すとおり、森川、鈴木、藤田グループの三つのグループで研究を進めている。



これまでに二酸化窒素を暴露したシロイヌナズナ葉抽出物をFPLCで分離した約12画分をケールダール分析し、いくつかの未解明窒素 (UN) リッチ画分が得られた (森川グループ)。昨年末そのうちの数画分に植物が作る未解明窒素化合物として、ある種の化合物 (UN候補化合物-1) が発見された (鈴木グループ)。ある牧草 (オーチャードグラス) では、窒素肥料由来の全窒素の53.9%がUNとなることが分かった (藤田グループ)。植物における新規な窒素代謝経路の存在の可能性が、改めて示唆されたと思われる。本年度は、以下の点に焦点を絞って研究を進める。

(A) UN化合物候補-1の解析

- (1) 二酸化窒素を暴露したシロイヌナズナ葉で生成するUN化合物候補-1のNMR等による詳細な構造決定
- (2) UN化合物候補-1および関連化合物の全合成経路の確立と大量合成
- (3) 動植物細胞における本UN化合物候補-1の生理作用の解析
- (4) 生合成経路の解析 (細胞粗抽出液に基質を添加し、UN化合物候補-1または関連化合物のLC-MS分析)

(B) UN化合物生成・分解に関与する遺伝子の解明

- (1) UN化合物の生成、分解に関与すると考えられる酵素遺伝子のクローニング
- (2) 活性窒素ストレスとUN化合物候補-1の生成、分解との関連、遺伝子の単離
- (3) をオーバー・エクスプレスまたはサブプレスしたトランスジェニック植物の育成と解析

(C) モデル植物、葉菜作物および飼料作物などの作る硝酸由来のUN化合物の解析

各試料をFPLC/HPLCで分画し、ケールダール分解によりUNリッチ画分を精査し、その各分を大量に調製、部分精製し、NMR分析などにより構造決定する。

- (1) 硝酸で育てたタバコ葉に含まれるUN化合物の解析
- (2) 葉菜作物や飼料作物が作るUN化合物の解析。

3. 研究実施体制

森川グループ

- ① 研究分担グループ長：森川弘道 (広島大学大学院理学研究科、教授)
- ② 研究項目：未解明窒素化合物の分画と精製。

鈴木グループ

- ① 研究分担グループ長：鈴木仁美 (関西学院大学理工学部、教授)
- ② 研究項目：未解明窒素化合物の構造解析・生成機構。

藤田グループ

- ① 研究分担グループ長：藤田耕之輔 (広島大学大学院生物圏科学研究科、教授)
- ② 研究項目：野菜、飼料中の未解明窒素の解析。

4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

（1）論文（原著論文）発表

- Y. Kawamura, K. Fukunaga, A. Umehara, M. Takahashi and H. Morikawa. Selection of *Rhododendron mucronatum* plants that have a high capacity for nitrogen dioxide uptake. *Acta Biotechnol.*, 22:113-120 (2002).
- H. Morikawa, M. Takahashi and Y. Kawamura. Metabolism of nitrogen dioxide in plants-Assimilation, dissimilation and novel metabolites. *Physiol. Mol. Biol. Plant.*, 8(1) 19-29 (2002)
- A. Sakamoto, M. Ueda and H. Morikawa. *Arabidopsis* glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase is an *S*-nitrosoglutathione reductase. *FEBS Lett.* 515: 20-24 (2002)
- K. Kondo, M. Takahashi and H. Morikawa. Regeneration and transformation of a roadside tree *Pittosporum tobira* A. *Plant Biotechnol.*, 19(2) 135-139 (2002)
- H. Morikawa, A. Sakamoto, M. Takahashi and H. Hokazono. Mechanism of the integration of transgenes into the host genome introduced by particle bombardment. *Plant Biotechnol.*, 19, 219-228, 2002
- A. Sakamoto, S. Tsukamoto, H. Yamamoto, M. Hashimoto-Ueda, M. Takahashi, H. Suzuki and H. Morikawa. Functional complementation in yeast reveals a protective role of chloroplast 2-Cys peroxiredoxin against reactive nitrogen species. *Plant J.*, 33, 841-851, 2003
- Özgür Cem Erkin, Misa Takahashi, Atsushi Sakamoto, Hiromichi Morikawa. Development of regeneration and transformation systems for *Raphiolepis umbellata* L. ("Sharinbai" plants) using particle bombardment. *Plant Biotechnol.*, 20, 145-152, 2003

（2）特許出願

H14年度特許出願件数：2件（研究期間累積件数：2件）