

「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」

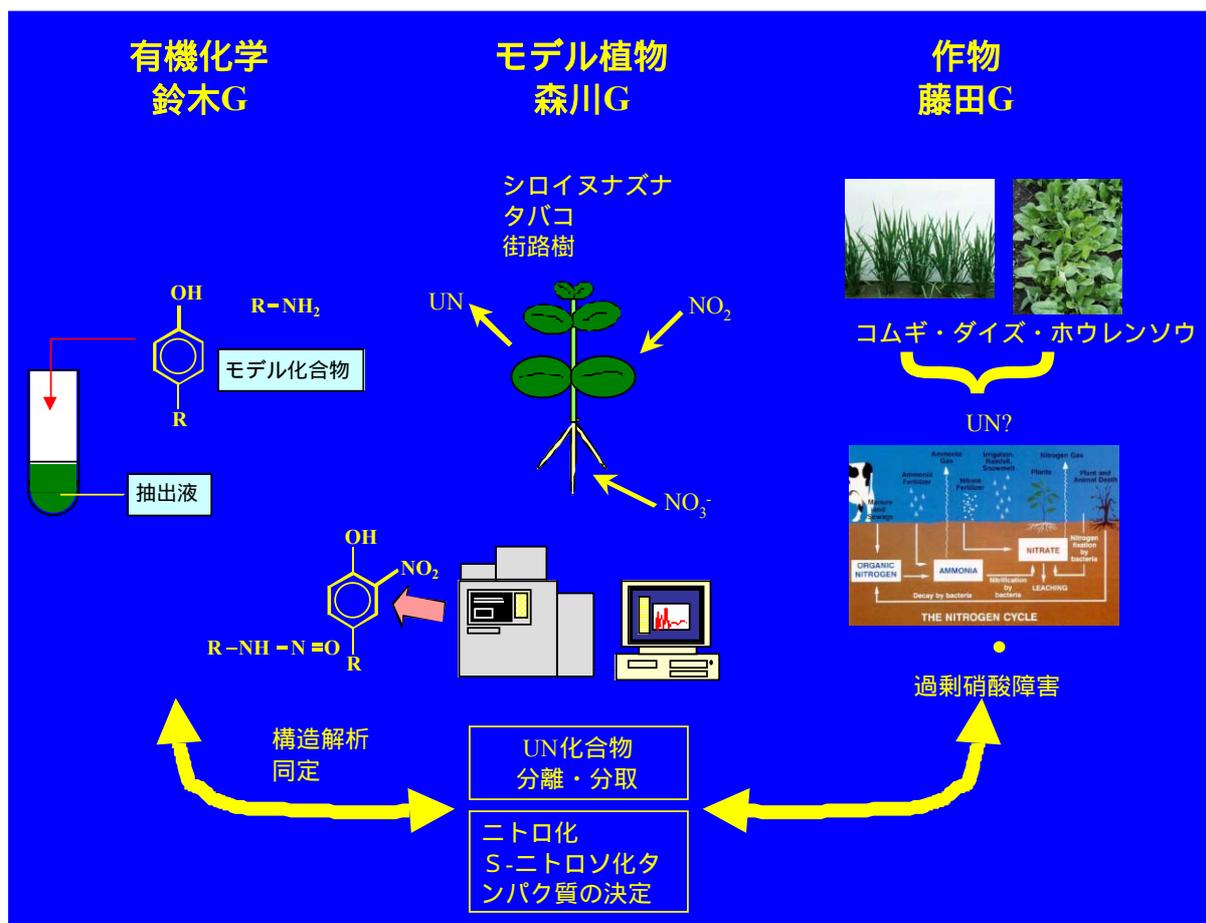
### 1. 研究実施の概要

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。シロイヌナズナが作る二つの未解明窒素化合物の構造が解明された(化合物AおよびB)。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。

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たところ、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、化合物Aが発見された(鈴木グループ)。本化合物は、Scifinderによる検索、またJICSTによる特許、文献検索でも全くヒットしなかった。他方、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)。また、イネでは、硝酸を与えた場合大量の亜酸化窒素を放出することが分かった(森川グループ)。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) 化合物Aの解析

- (1) 化合物Aおよび関連化合物の全合成経路の確立と大量合成
- (2) 生合成経路の解析(細胞粗抽出液に基質を添加し、化合物Aまたは関連化合物のLC-MS分析)

(B) その他の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、構造決定する。

- (1) 二酸化窒素を暴露した葉の他の画分中に含まれる他種のUN化合物についての解析
- (2) 飼料作物、葉菜作物が作るUN化合物(化合物Aとの比較も含む)。

(C) 活性窒素ストレス代謝関連遺伝子をオーバー・エクスプレスまたはサプレスしたトランスジェニック植物の育成と解析

(D) 動物におけるUN化合物生成と解析

(E) 脱窒素植物

- (1) シュードモナス由来の亜酸化窒素還元酵素(N2OR)遺伝子(nosZ)およびN2OR活性化遺伝子群を発現させたトランスジェニック植物の育成
- (2) 高感度同位体質量分析法による種々の無菌植物における窒素ガス生成の解析

(F) プロテオミクス

シロイヌナズナを二酸化窒素暴露したときに発現するタンパク質を二次元電気泳動により分離し、アミノ酸配列を決定する。さらに、ゲノム情報を用いて関連する遺伝子を単離する。

3. 研究実施体制

森川弘道 研究グループ

- 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 (UN化合物) の研究の総括

鈴木仁美 研究グループ

- 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：UN化合物の構造解析、UN化合物および関連化合物の合成

藤田耕之輔 研究グループ

- 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：UNを作る飼料作物や葉菜作物の栽培と大量試料調製。高硝酸飼料を与えた家畜動物におけるUN生成の解析

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

- M. Takahashi, K. Kondo and H. Morikawa. Assimilation of nitrogen dioxide in selected plant taxa . *Acta Biotechnol.*, 23, 241-247 (2003)
- M. Hakata, M. Takahashi, G. Zumft, A. Sakamoto, and H. Morikawa. Conversion of the nitrogen of nitrate and nitrogen dioxide to nitrous oxide in plants. *Acta Biotechnol.*, 23, 249-257 (2003)
- H. Morikawa, M. Takahashi, M. Hakata and A. Sakamoto. Screening and genetic manipulation of plants for decontamination of pollutants from the environments. *J. Biotechnol. Adv.* 22 (1), 9-15 (2003)
- H. Morikawa, O.C. Erkin. Basic Processes in Phytoremediation and Some Applications to Air Pollution Control. *Chemosphere* 52(9), 1553-1558 (2003)
- H. Morikawa, M. Takahashi, A. Sakamoto, G. Arimura, Y. Kawamura, K. Fukunaga, K. Fujita, N. Sakurai, T. Hirata, H. Ide, N. Nonoyama and H. Suzuki. Formation of previously-unknown unidentified nitrogen in plants: an implication for a novel nitrogen metabolism. *Planta* 219, 14-22 (2004)

(2) 特許出願

H15年度特許出願件数：4件（CREST研究期間累積件数：6件）