

「植物の機能と制御」

平成 14 年度採択研究代表者

西村 いくこ

(京都大学大学院理学研究科 教授)

「種子蛋白質の量的・質的向上を目指した分子育種」

1. 研究実施の概要

世界的な人口増加による食糧難の時代に備えて、作物の生産向上が緊急の課題の一つとなっている。特に、コメや豆類をはじめとする植物の種子は私達の貴重な食糧源であり、また家畜飼料としても重要である。高品質のタンパク質や有用なタンパク質を含む作物を創出するためには、目的の遺伝子をただ導入するというのではなく、導入した遺伝子産物を安定な形で細胞内に大量に蓄積させることが重要な鍵となる。このための技術基盤として、植物が本来持っている“タンパク質の合成の場から蓄積の場への大量輸送・集積の分子機構”の解明が必須となる。本研究課題では、植物の特性を理解し、それを十分に生かして量的向上と質的向上の両面から種子の高付加価値化を達成するための基盤作りの一環としての研究を行う。量的向上研究では、登熟期の種子の細胞内での種子タンパク質の大量集積に関わる因子を網羅的に単離し、これに関わる分子機構の全容の解明を目指している。一方、質的向上研究では、液胞の機能発現に関わる液胞プロセッシング酵素 VPE に注目し、種子タンパク質の性質の改変と病害に対する抵抗反応の分子機構を解明しようとしている。

2. 研究実施内容

これまでの研究から、種子貯蔵タンパク質の集積に関わる新規のオルガネラ PAC 小胞や種子タンパク質の液胞選別輸送レセプターを発見してきた。これらの発見により、これまで全く不明であった種子タンパク質の液胞への選別輸送に関わる分子機構が少しずつ明らかになってきたが、その全容解明にはほど遠かった。2006 年度は、種子タンパク質の集積機構の全貌を分子レベルで解明する目的で、モデル植物シロイヌナズナの正遺伝学を駆使して新規の遺伝子の単離とその機能解析を集中的に行った。

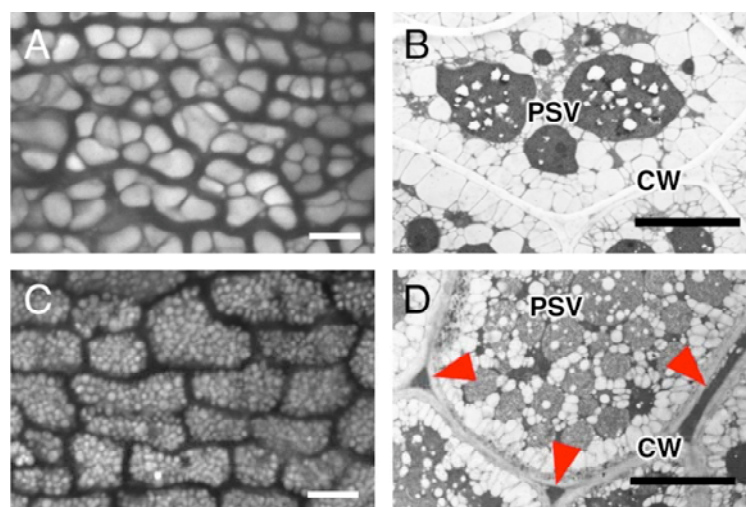


図 1. *mag1* 変異体の種子は貯蔵タンパク質を細胞外に分泌している。

野生型では種子タンパク質は細胞内のタンパク質蓄積型液胞 (PSV) に集積しているが (B), *mag1* 種子では貯蔵タンパク質が細胞外に分泌されている (D の赤矢尻). *mag1* 変異体 (C) の PSV は, 野生型 (A) の PSV に比べて小さく, 発達不全を示す.

貯蔵タンパク質を前駆体の状態で蓄積している変異体 (*maigo* (*mag*) と命名) の種子を T-DNA タグラインの中から選抜した. これまでに *mag1* と *mag2* の原因遺伝子を同定した. *mag1* 変異体は, 種子タンパク質の前駆体を誤って細胞外に集積していた (図 1). MAG1 はレトロマーの構成成分 VPS29 のホモログで, 種子タンパク質の輸送レセプターのリサイクルに関与していると考えられた (Shimada et al., Plant Cell Physiol., 2006). *mag2* 変異体は, 細胞内に電子密度の高い新規構造体を多数形成し, その内部に種子タンパク質の前駆体を蓄積していた (図 2). MAG2 は小胞体で合成されたタンパク質をゴルジ体へ輸送する段階で関与していることが判明した (Li et al., Plant Cell, 2006).

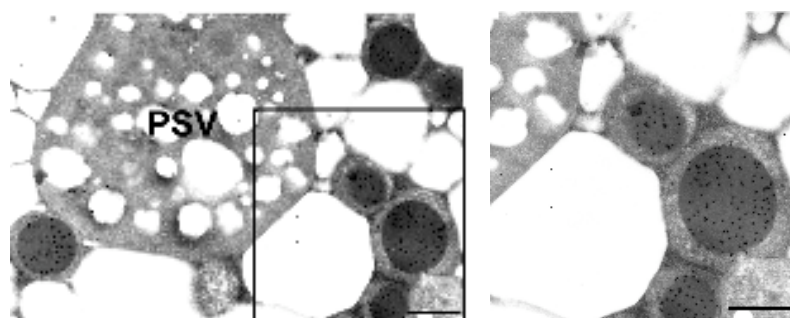


図 2. *mag2* 種子の細胞内には, 種子タンパク質前駆体を蓄積している新規構造体が出現する. 主要種子タンパク質 2S アルブミンの前駆体に特異的に反応する抗体を作製し, これを用いて免疫電子顕微鏡観察を行った. 右図は左図の囲み部分の拡大.

GFP を利用した変異体の大量選抜方法を考案した (Fuji et al., Plant Cell, 2007). この方法は, 変異体選抜の効率を飛躍的に向上させ, これまでに 300 万粒の種子をスクリーニ

ングし、200 ライン近い変異体 (*green-fluorescent seed (gfs)* と命名) を得ることができた (図 3). これまでに 3 つの *gfs* 変異体の解析を終了している. GFS1 は液胞選別輸送レセプター-VSR1 で, GFS10 は機能不明の膜タンパク質であった. GFS2 はエンドソームの形成や胚の形態形成に関与する KAM2 であることが分かった (Tamura et al., Plant Cell, 2007).

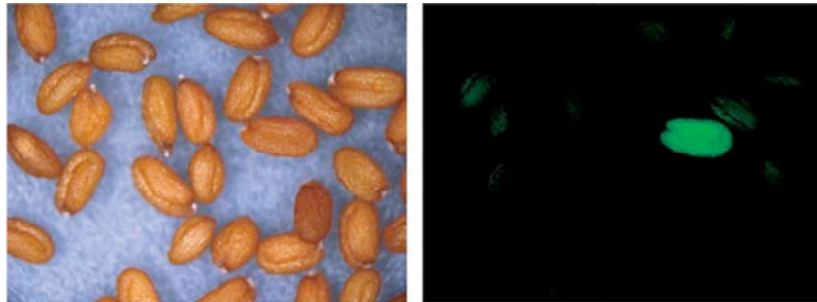


図 3. GFP 蛍光を指標にした新規輸送変異体 *gfs* の選抜.

液胞型 GFP を導入した形質転換シロイヌナズナを変異原処理し、乾燥種子において強い GFP 蛍光を発する個体を *gfs* 変異体として選抜する.

3. 研究実施体制

(1)「西村」グループ

①研究者名

西村 いくこ (京都大学 教授)

②研究項目

・種子タンパク質の量的・質的向上を目指した研究

4. 研究成果の発表等

(1)論文発表(原著論文)

- Li, L., Shimada, T., Takahashi, H., Ueda, H., Fukao, Y., Kondo, M., Nishimura, M., and Hara-Nishimura, I. (2006) MAIGO2 is involved in exit of seed storage proteins from the endoplasmic reticulum in *Arabidopsis thaliana*. **Plant Cell**, 18, 3535-3547.
- Shimada, T., Koumoto, Y., Li, L., Yamazaki, M., Kondo, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006) AtVPS29, a putative component of a retromer complex, is required for the efficient sorting of seed storage proteins. **Plant Cell Physiol.**, 47, 1187-1194.
- Ueda, H., Nishiyama, C., Shimada, T., Koumoto, Y., Hayashi, Y., Kondo, M., Takahashi, T., Ohtomo, I., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006) AtVAM3 is required for normal specification of idioblasts, myrosin cells. **Plant Cell Physiol.**, 47, 164-175.
- Hatsugai, N., Kuroyanagi, M., Nishimura, M. and Hara-Nishimura, I. (2006) A cellular suicide

strategy of plants: vacuole-mediated cell death. **Apoptosis**, 11, 905-911.

- Terauchi, K., Asakura, T., Ueda, H., Tamura, T., Tamura, K., Matsumoto, I., Misaka, T., Hara-Nishimura, I. and Abe, K. (2006) Plant-specific insertions in the soybean aspartic proteinases, soyAP1 and soyAP2, perform different functions of vacuolar targeting. **J. Plant Physiol.**, 163, 856-862.
- Kong, S.-G., Suzuki, T., Tamura, K., Mochizuki, N., Hara-Nishimura, I. and Nagatani, A. (2006) Blue light-induced association of phototropin2 with the Golgi apparatus. **Plant J.**, 45, 994-1005.

(2) 特許出願

平成 18 年度特許出願:0 件 (CREST 研究期間累積件数:5 件)