

無細胞翻訳系を基盤とした生化学的アプローチによる植物生理学・生態学的研究
Biochemical approach based on a cell-free translation system for plant physiology
and ecology research

根本 圭一郎

公益財団法人 岩手生物工学研究センター 園芸資源研究部

私たちはこれまでに、高効率な *in vitro* タンパク質合成システム「コムギ胚芽無細胞翻訳系」を植物研究に適用し、植物の多様な生命現象の仕組みを生化学的視点から明らかにすることを目的に研究を行ってきた。特に、細胞内情報伝達系に関する研究を中心に展開しているが、最近、花の形態学的研究や、タンパク質間相互作用に基づいたケミカルスクリーニングによる新たな植物成長調整剤の開発などにも取り組んでいる。

1) 多様な植物生理現象に関わるリン酸化シグナル伝達機構の研究

生物は、外部からの刺激を感知し、その情報を細胞内へ伝達し応答するための様々なシステムを有している。タンパク質のリン酸化は主要な細胞内情報伝達系の1つであり、ほぼすべての生命現象の制御に関わっていると考えられている。タンパク質のリン酸化はプロテインキナーゼによって触媒され、ゲノム解析から、植物にはヒトの3倍以上のプロテインキナーゼ遺伝子が存在することが明らかになっている。しかしながら、それらの生化学特性はほとんど明らかにされておらず、特に、チロシン残基をリン酸化するプロテインキナーゼの実体は長い間不明であった。そこで、私は、コムギ無細胞系を基盤とした技術により、750種以上からなるシロイヌナズナのプロテインキナーゼライブラリーを構築し、網羅的な生化学的機能解析技術などを開発することで、それらの生化学的特性を明らかにした。本解析により、世界で初めて他己分子のチロシン残基をリン酸化する新規植物チロシンプロテインキナーゼの同定に成功し[1]、さらに、それらが植物ホルモン・ジベレリン(GA)受容体の安定化などに関与することなどを見出した[2]。本成果は、長年不明であった植物チロシンリン酸化の生物学的意義の解明に大きく貢献するものである。また、最近、上記技術を基本とした生化学的アプローチにより、植物-病原菌や虫などとの相互作用に関係する新規受容体様プロテインキナーゼなどの同定にも貢献している[3, 4]。

2) 花の形質および形態的变化に関する研究

釣鐘型またはお椀型の花の多くは、開花後に環境変化に応答して何度も開閉運動を繰り返すことが知られているが、その分子機序は明らかになっていない。リンドウの花は、温度と光環境の変化に応答して開閉することが科学的に示された最初の植物種の1つであり、その運動は素速く60分以内に完了する。そこで、リンドウの花の特性に注目し、その分子機序の解明を試みた。その結果、花の開花運動は細胞膜上に存在する水チャネル・アクアポリンによる水移動によって制御されていること、さらに、その機能が温度と光刺激依存的に活性化する新規カルシウム依存型プロテインキナーゼによって触媒されるリン酸化によって調節されているこ

などを明らかにした[5]。本成果は、およそ30年間不明であった植物アクアポリンのリン酸化による活性化の仕組みを明らかにしたものであり、花の運動に限らず、植物の水利用の仕組みを理解するための重要な知見になることが期待できる。

植物は送粉者を誘引するために花びらを開花させるが、花の色も重要な視覚的要素である。通常、リンドウは青色の花を咲かせるが、多彩な赤色を示す珍しいリンドウも存在する。私たちが調査したところ、リンドウ花の赤色は色素シアニジン-3-グルコシドによるものであるが、その色調が新規キサントン類化合物によるコピグメント効果によって調整されていることを見出した。さらに、その生合成酵素遺伝子を網羅的な *in vitro* 酵素活性スクリーニングによって特定することに成功した[6]。

3) 新たな植物成長調整剤開発への取り組み

植物ホルモン・アブシジン酸(ABA)は環境ストレス耐性や果実成熟などに関わるリン酸化シグナルを駆動するためのトリガー分子として機能する。近年、モデル植物シロイヌナズナなどのABA受容体を標的とした化合物探索によって、ABAと同じように受容体に結合することで受容体を活性化することができるアゴニスト化合物が同定され、環境ストレス耐性を誘導する新たな植物成長調整剤の可能性が見出されている。しかしながら、農作物への有用性や特異性などはほとんど評価されていない。私は、コムギ無細胞タンパク質合成系を基盤とした高感度ABA受容体機能解析技術を独自開発し、多種多様な植物種のABA受容体を同一評価系で解析することができる技術基盤を構築した。さらに、本技術はアゴニスト化合物探索を迅速に行えるように設計されており、実際に、新規なABA受容体アゴニストの開発にも成功している[7]。また、本法は、シンプルなタンパク質間相互作用に基づいているため、標的とする農作物の遺伝子情報さえ取得できればどのような農作物にも即適用可能であり、さらに、理論上、標的農作物に最適化したアゴニスト・アンタゴニスト化合物の開発が可能ることなどから、植物成長調整剤を開発するための有用なスキームの1つになることが期待される。

本研究を進めるにあたり、ご指導賜りました先生方、ご協力いただいた共同研究者の皆様、ご助言をくださった研究所の皆様、支援してくださったスタッフの皆様、全ての方々に厚く御礼申し上げます。

引用文献

1. Nemoto, K. *et al.* (2015) *The Journal of Biological Chemistry* **290**, 16665-16677.
2. Nemoto, K. *et al.* (2017) *Nature Communications* **8**, 1004.
3. Uemura, T. *et al.* (2020) *Communications Biology* **3**, 224.
4. Kato, H. *et al.* (2022) *Science* **376**, 857-860.
5. Nemoto, K. *et al.* (2022) *The Plant Cell* **34**, 2652-2670.
6. Sasaki, N.[#], Nemoto, K.[#], *et al.* (2021) *The Plant journal* **107**, 1711-1723. ([#]co-first author)
7. Nemoto, K. *et al.* (2018) *Scientific Reports* **8**, 4268.