

植物で明るい未来を

大学院生命農学研究科
生物圏資源学専攻、循環資源学講座、
生命共生学研究分野
高倍鉄子

農学部生化学制御研究施設との出会い

(生物機能開発利用研究センターの前身)



農学部共通アミノ酸分析器

(1971)

研究者、技術員、事務員



最初の研究

1978.4 名古屋大学農学部生化学制御研究施設
名古屋大学大学院生化学制御専攻

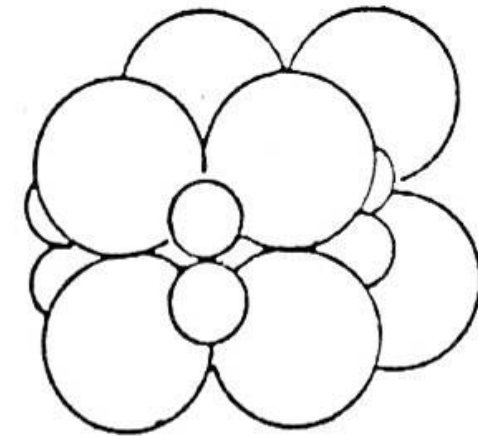
重い
寒い
手作り
女性研究者はいない



1978
生化学制御年報

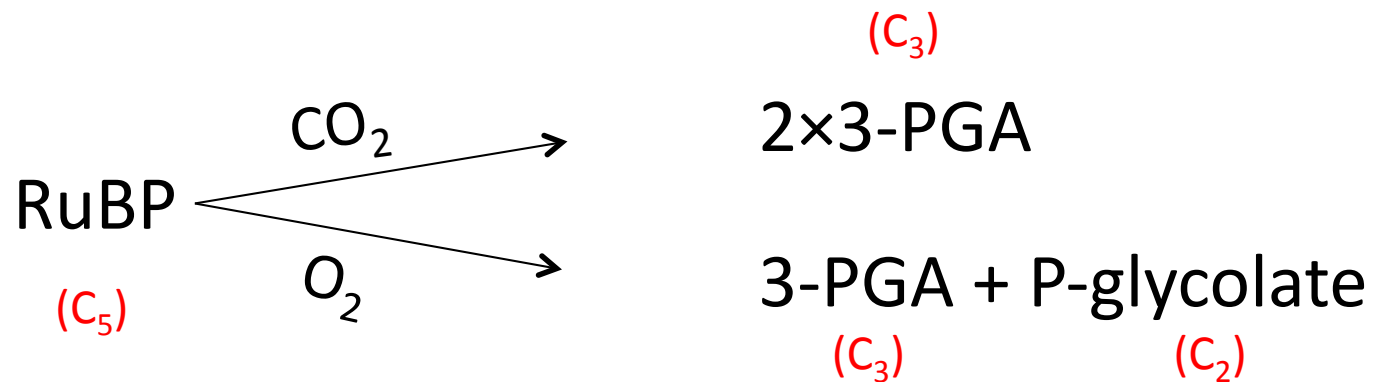
地球上で一番多いタンパク質Rubiscoとの出会い

Ribulose bisphosphate carboxylase/oxygenase



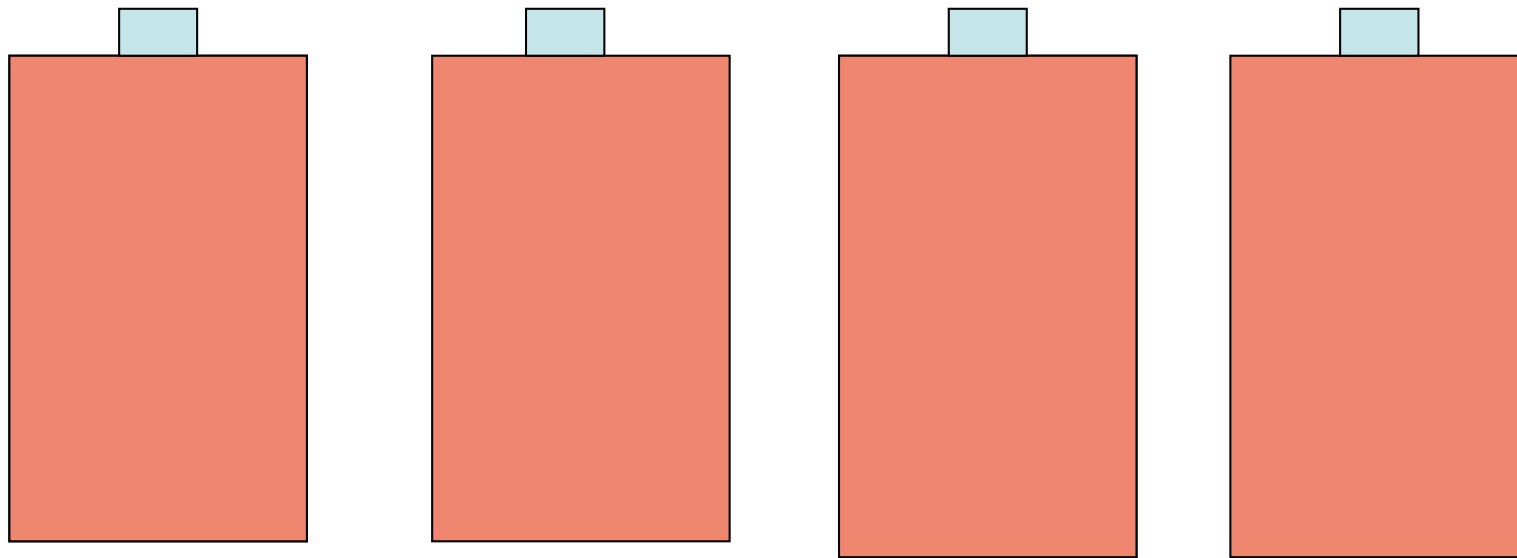
Holoenzyme

(L₈S₈)



赤い光合成細菌との出会い

- *Chromatium vinosum*: 絶対嫌気性イオウ細菌



20L-30L ガラスビン

テーマ

ホウレンソウRubiscoはL₈S₈

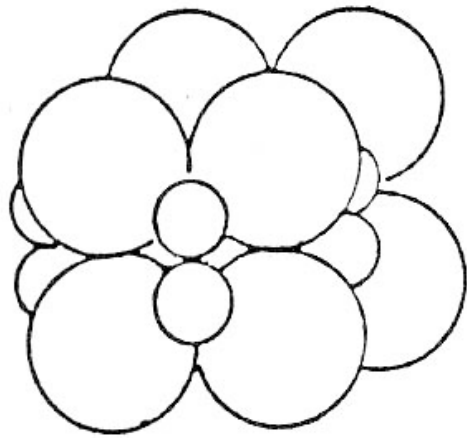
偏性嫌気性紅色非イオウ細菌*R. rubrum* L₂

- *Chromatium vinosum* Rubiscoは？
- 1) サブユニット構造？ → L₈S₈
- 2) Oxygenase活性を持つのか？ → 持つ
- 3) 小サブユニットの役割は？ → 難題！
酵素の活性化、反応に対する貢献はあるのか？
- 4) L, S 遺伝子は？ → 染色体DNA上に並んでいる



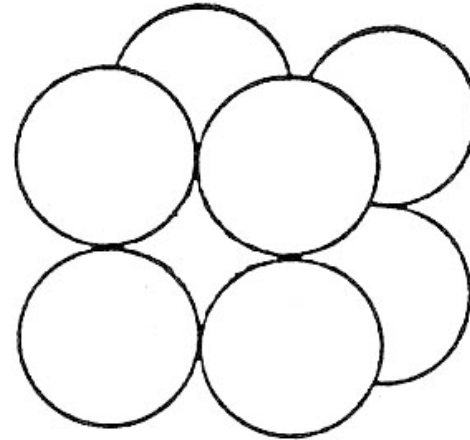
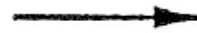
1980-81 —————> 1997

死海の藍藻の登場



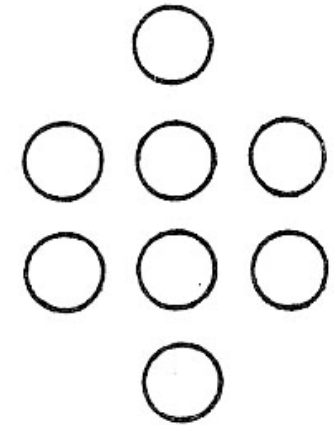
Holoenzyme

(L_8S_8)



Catalytic core

(L_8)

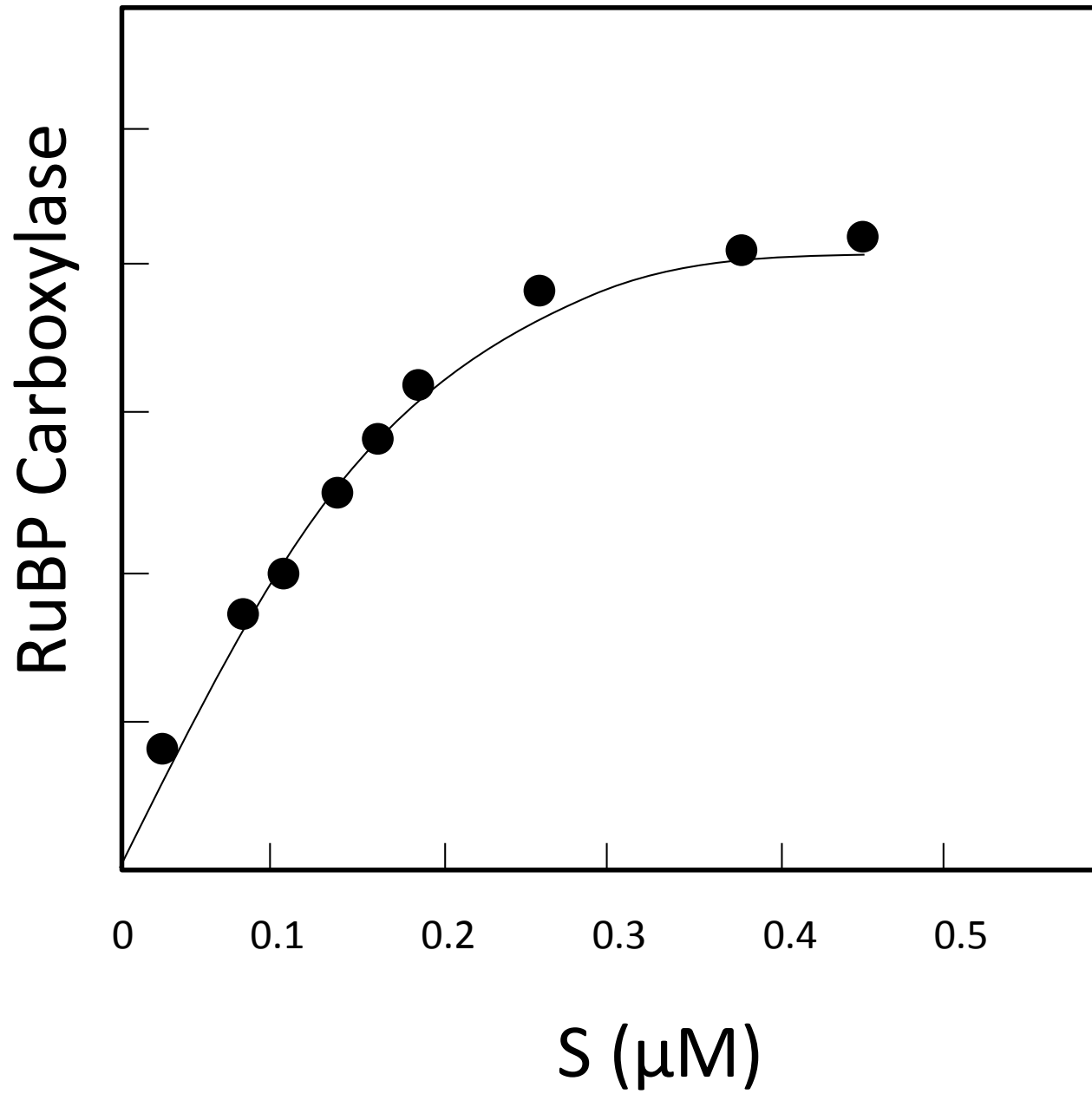


Subunit **S**

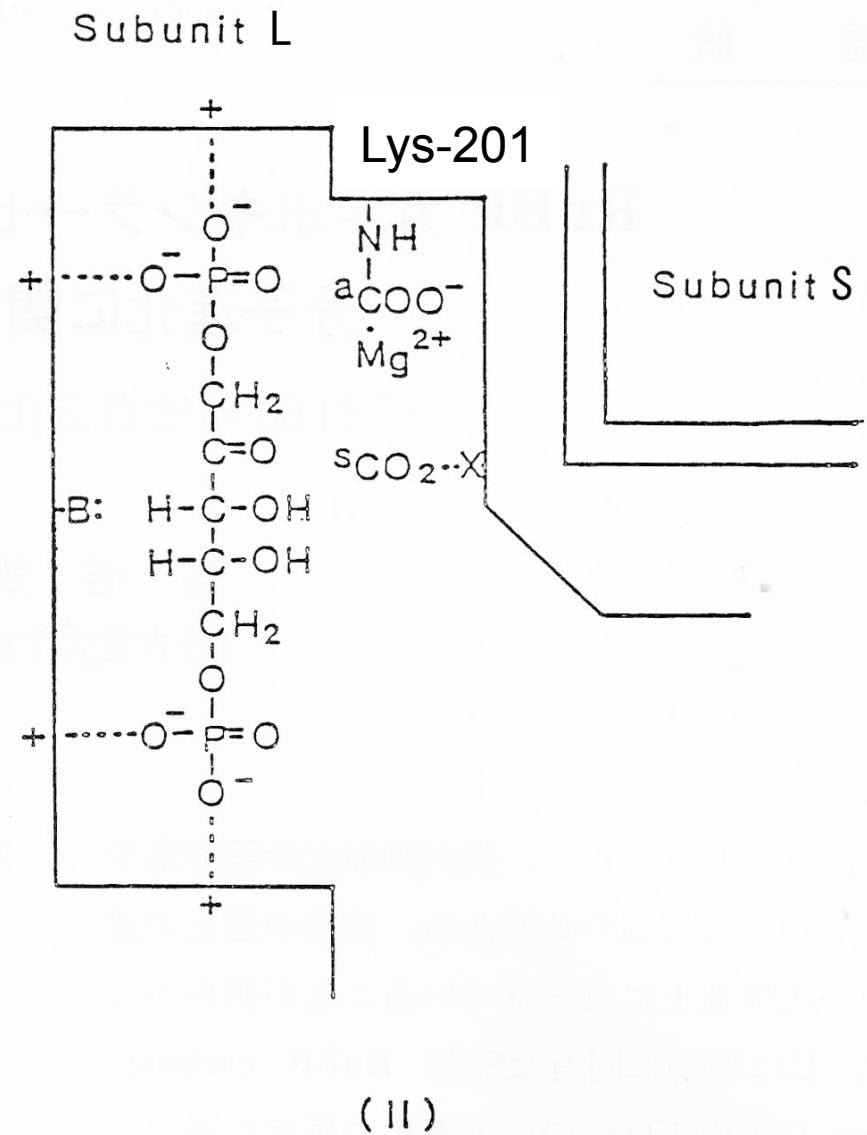
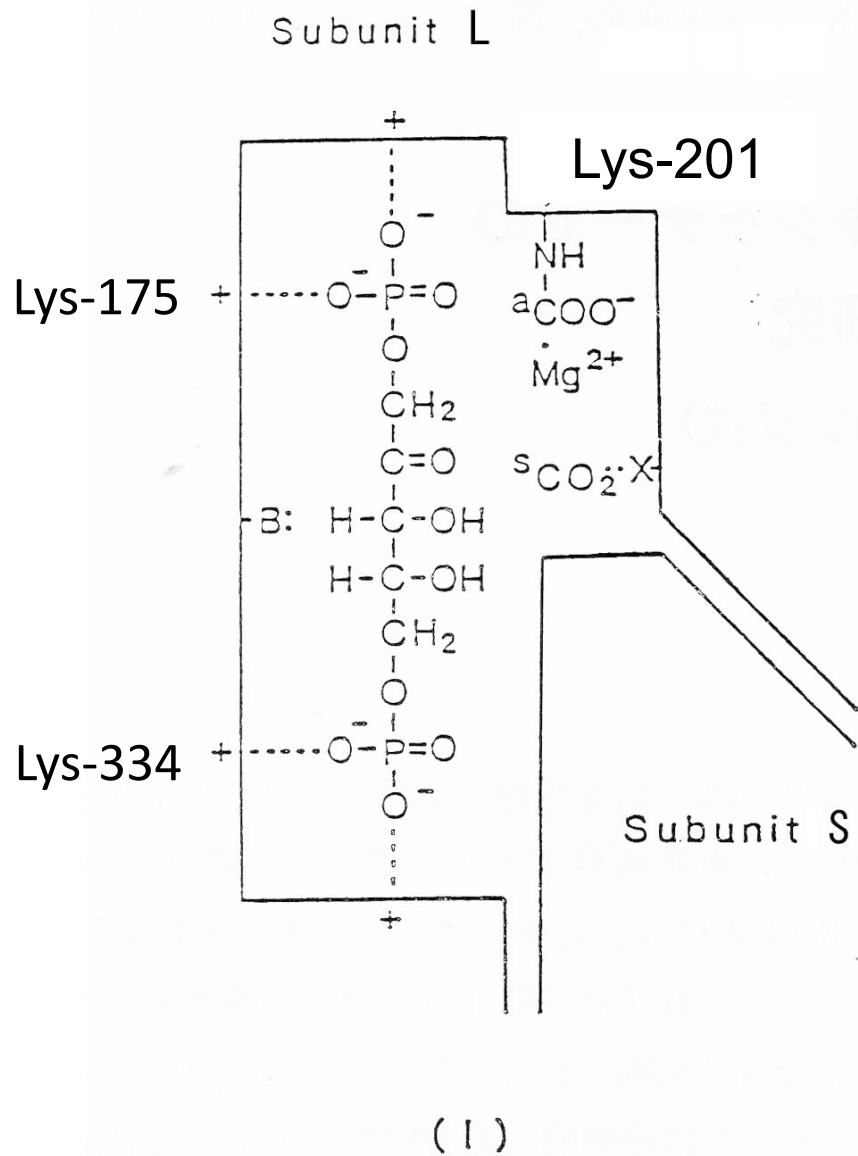
M. W. subunit **L** 55,000

M. W. subunit **S** 12,000

L₈に対するSサブユニットの添加効果







RuBisCOの活性部位とこれと直接的(I)あるいは間接的(II)に相互作用するサブユニットS



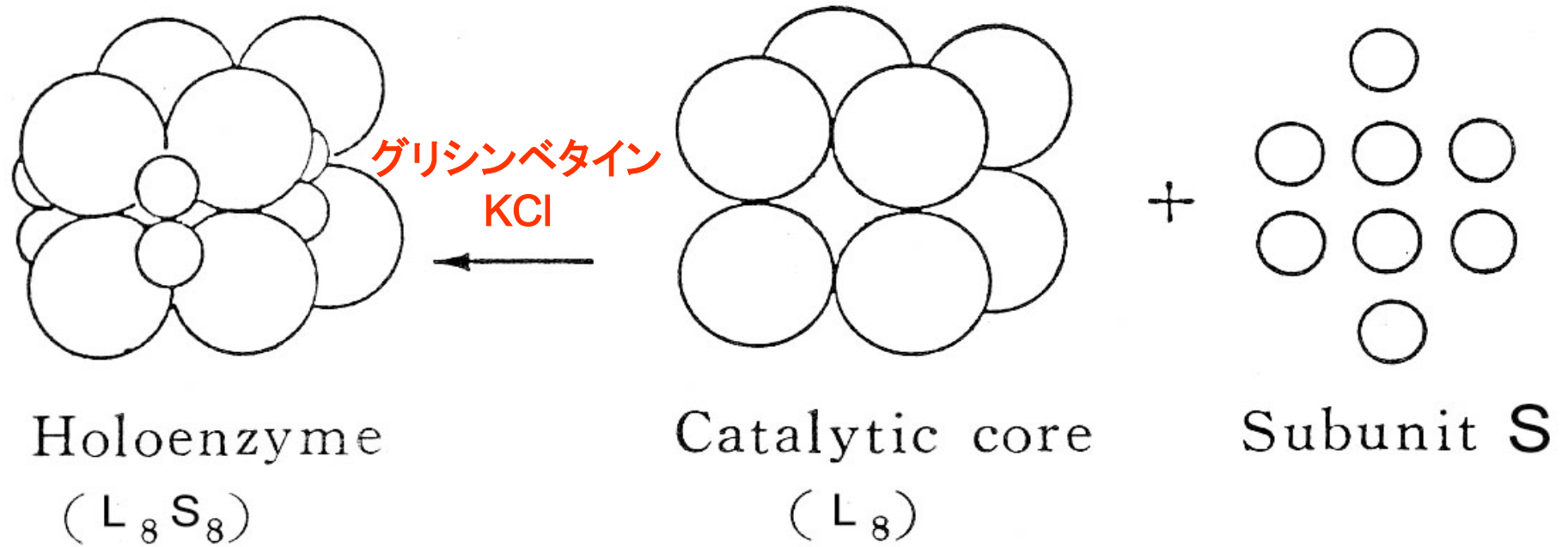
塩ストレス耐性に関する研究

分子レベルの研究が世界でも少なく、
日本では絶対にやられていない研
究を！

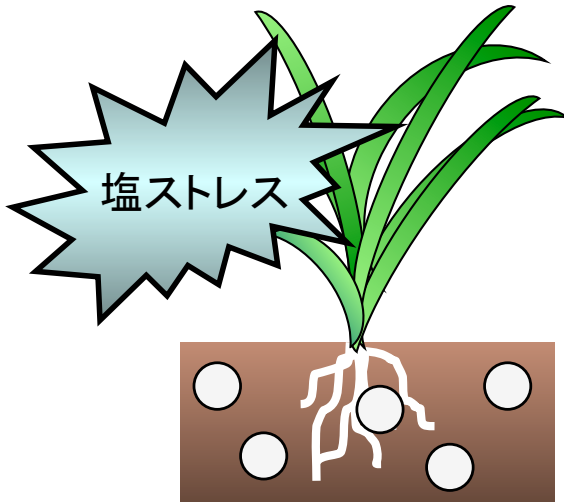
Salty Desert in Thailand (タイの塩砂漠)



死海藍藻のRubisco



耐塩性機構



1. 適合溶質(compatible solute)の蓄積

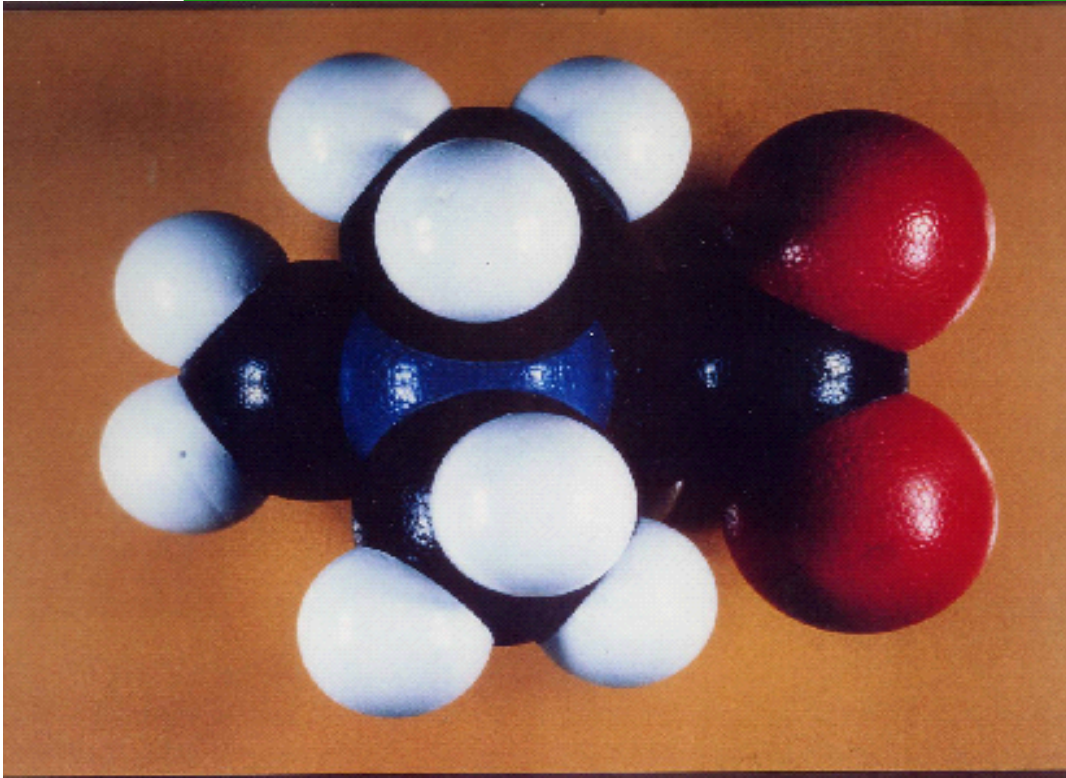
グリシンベタイン、プロリン、
トレハロースなど

2. 過剰なイオンの排出と隔離

- ・細胞外への排出や液胞への隔離
- ・吸収の抑制

3. 活性酸素種の消去

グリシンベタイン(ベタイン)



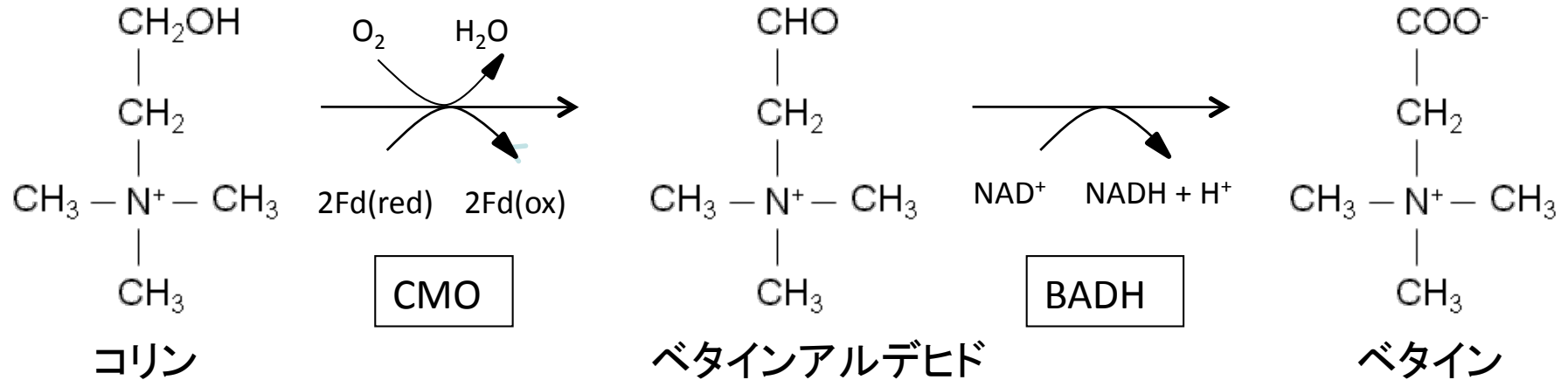
<ベタインの機能>

1. 浸透圧調節
2. 酵素や膜の保護
3. DNAの T_m 値の低下

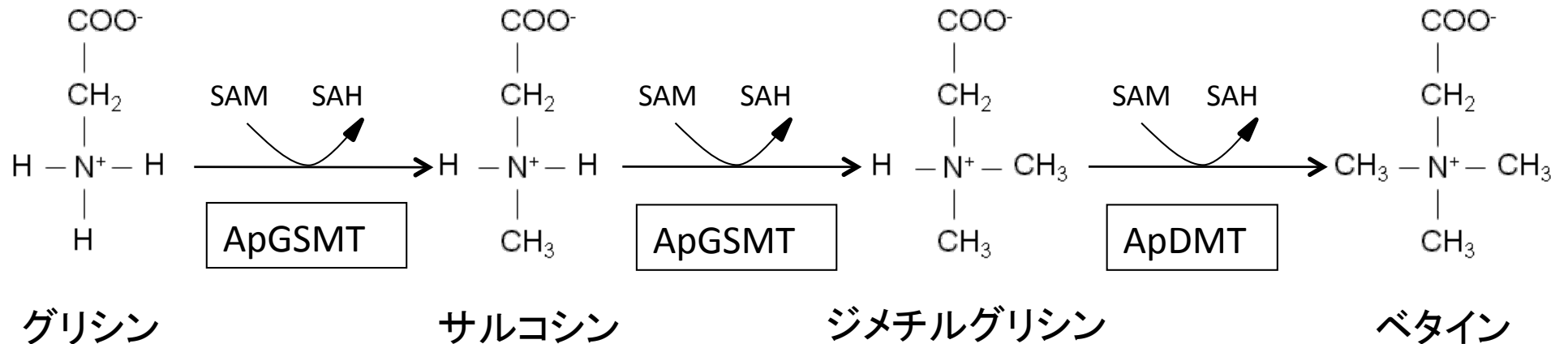
ベタイン蓄積量と耐塩性 → 正の相関

*Aphanothece halophytica*のベタイン合成経路の発見

A Plants (Amaranthaceae)



B *Aphanothece halophytica*



J. Biol. Chem. 278:4932-4942 (2003)

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102:1318-1323 (2005)

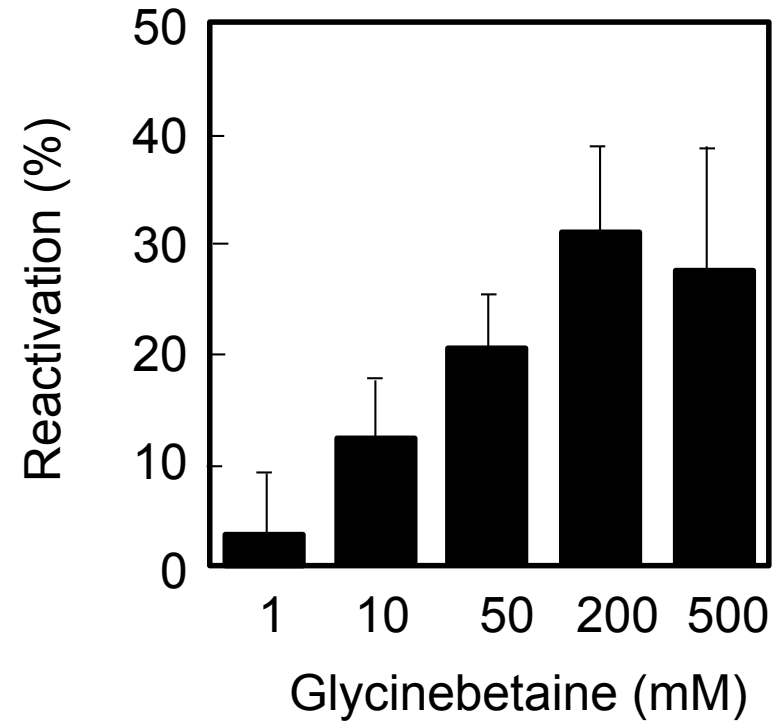
ベタインは淡水性ラン藻の耐塩性を向上する



野生型 + ベタイン合成能
付与

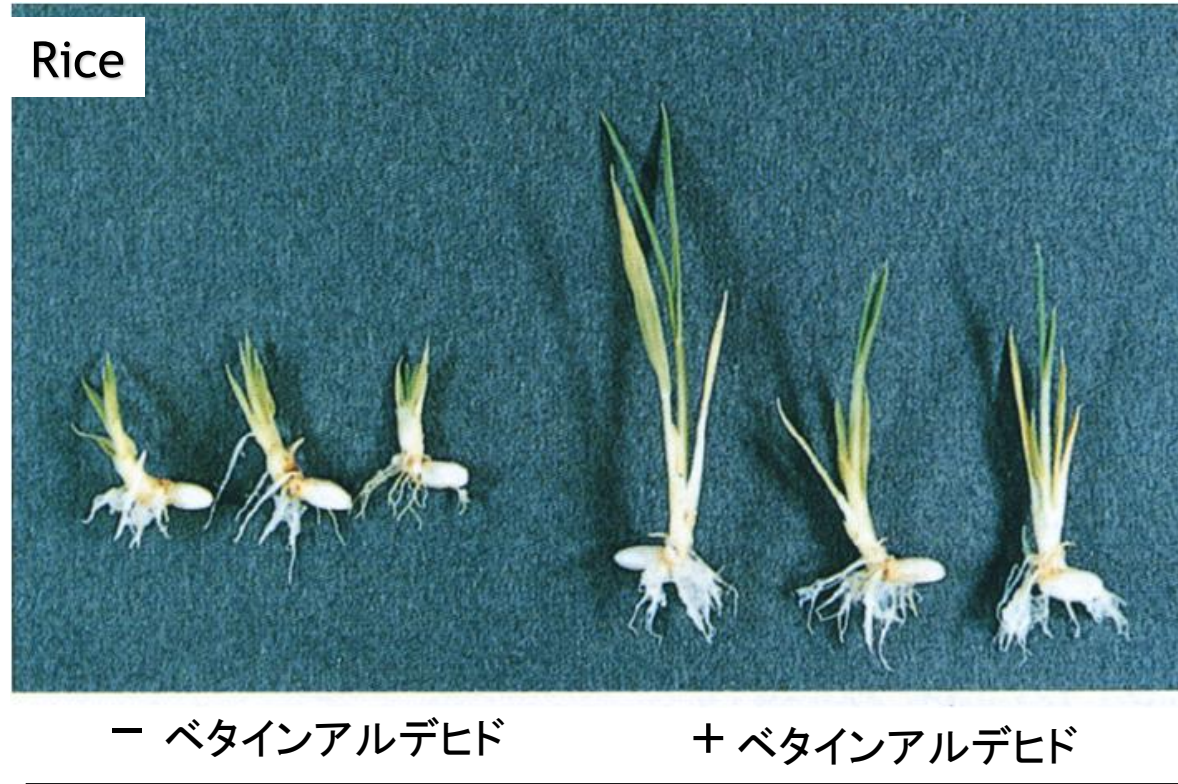
Plant Physiol. 1995

酸変性による
RuBPカルボキシラーゼ活性の再活性化



Plant Cell Physiol. 1998

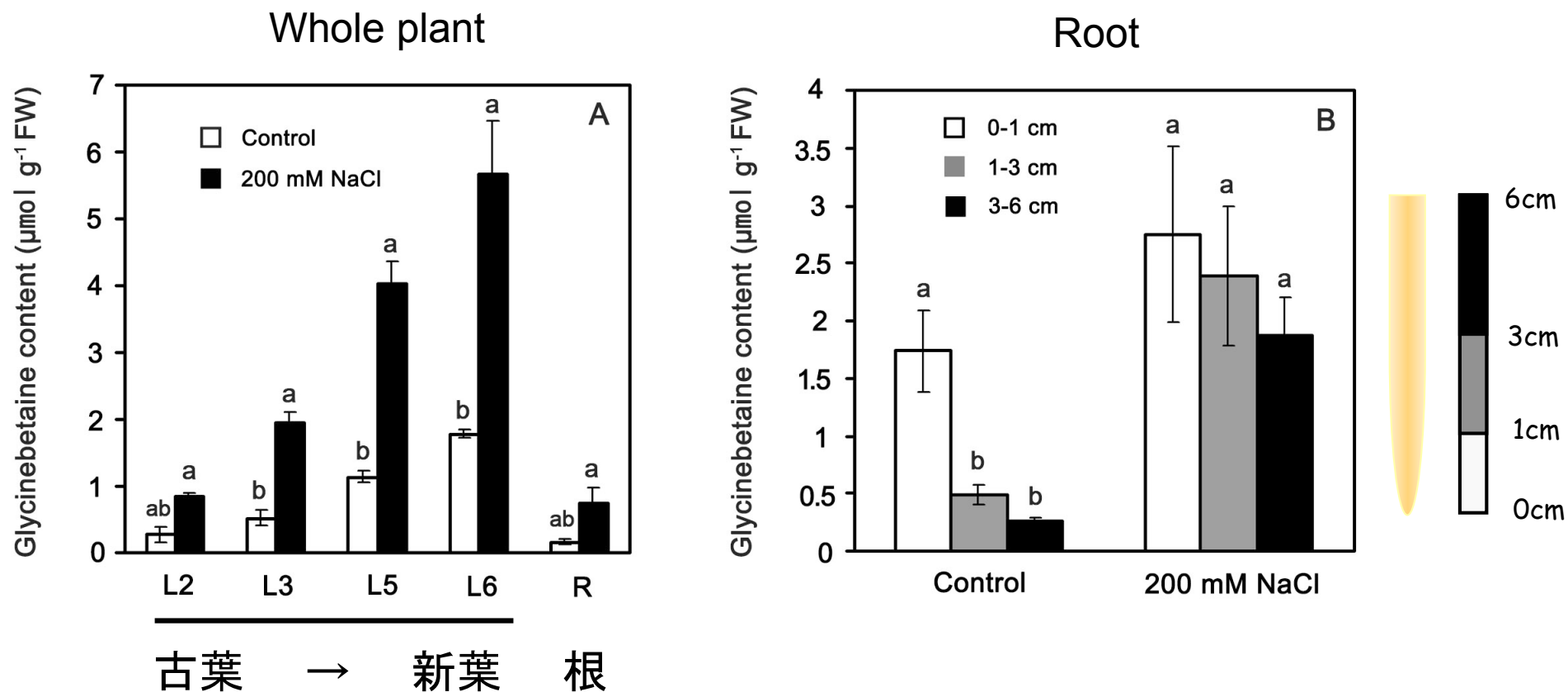
ベタインを蓄積したイネは耐塩性が向上する



150 mM NaCl

Plant J. 1997

オオムギの各器官におけるベタイン含量

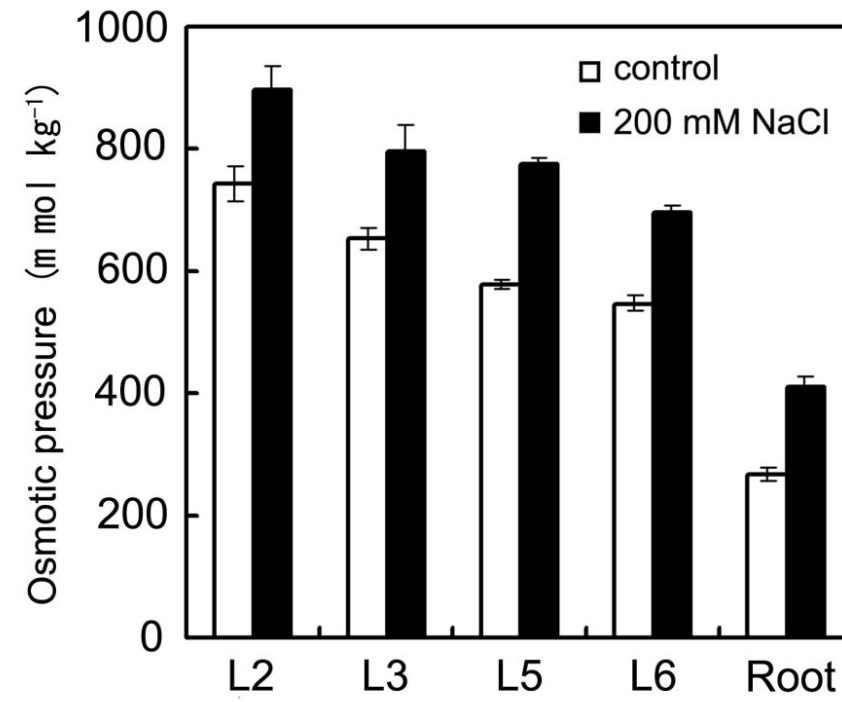
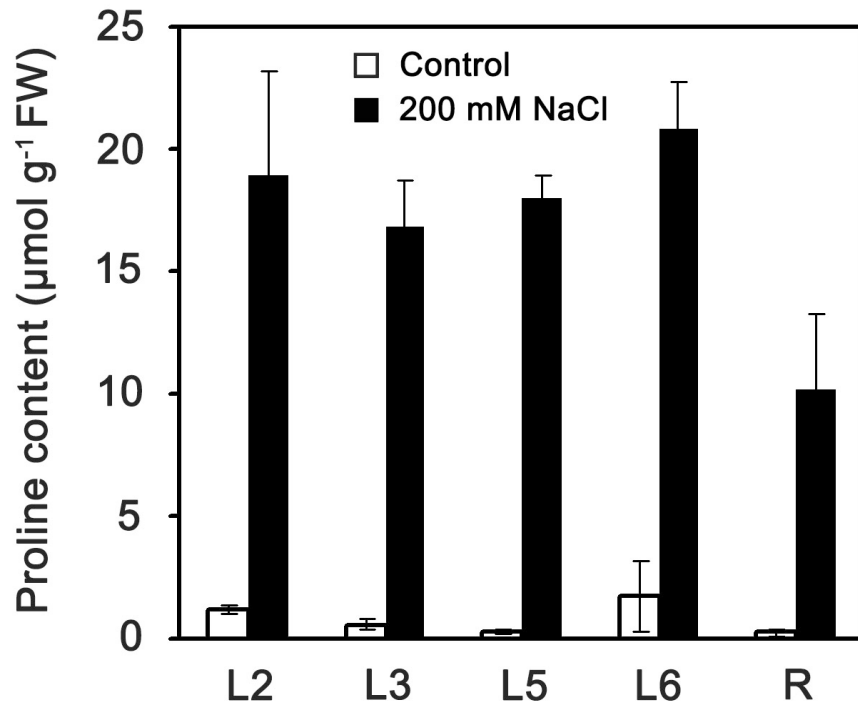


若い器官に蓄積

オオムギ各器官におけるプロリン含量、浸透圧

プロリン

浸透圧



古葉 → 新葉 根

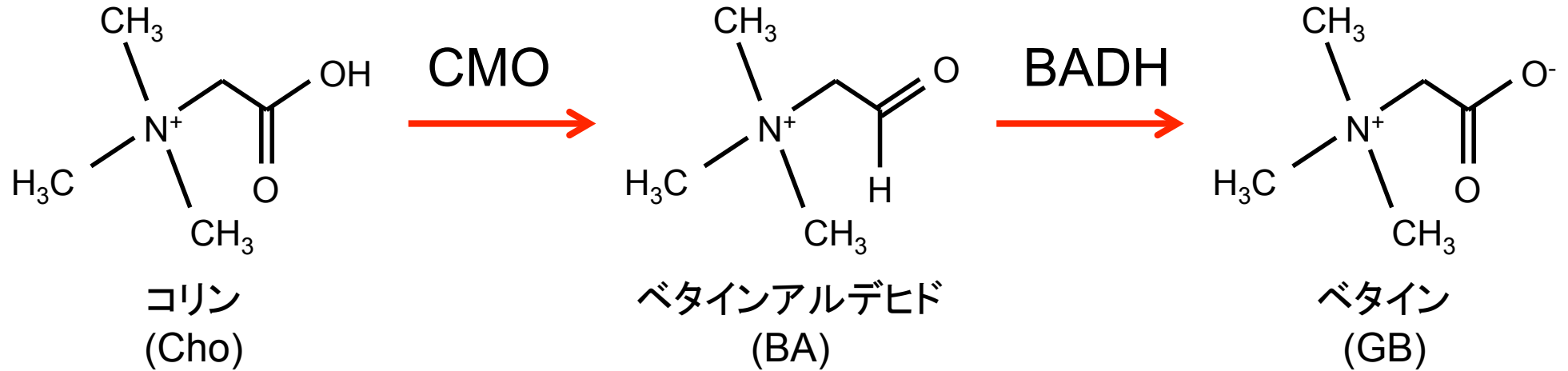
古葉 → 新葉 根

一様に蓄積

Plant Sci. 2009

植物におけるベタイン合成

ヒユ科、イネ科



**Betaine Aldehyde Dehydrogenase
(BADH)**

オオムギにおけるベタイン合成

イネ科(オオムギ)

コリン
(Cho)



HvCMO

ベタインアルデヒド
(BA)



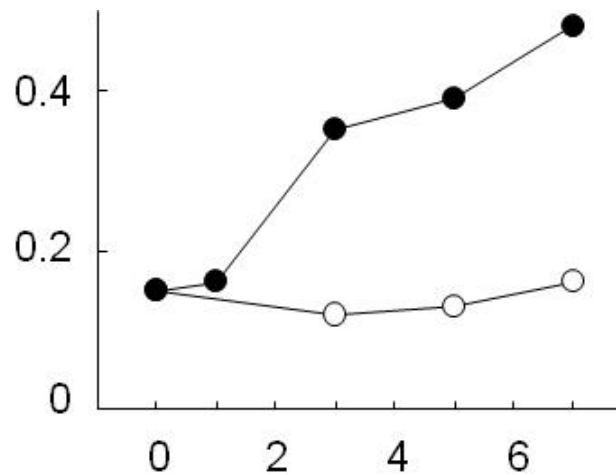
HvBADH2

ベタイン
(GB)

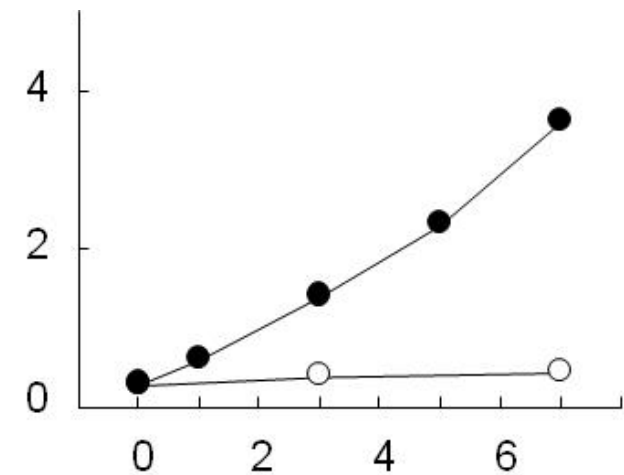
Barley (*Hordeum vulgare* L.)



ベタイン蓄積量
($\mu\text{mol/g FW}$)



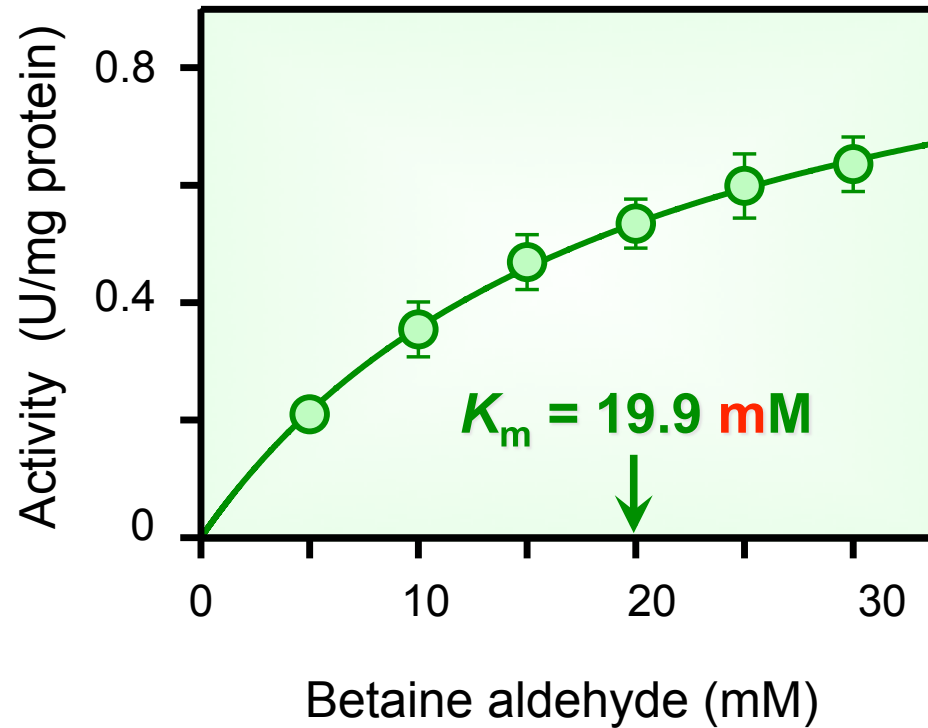
BADH 活性
($\text{nmol/min/mg protein}$)



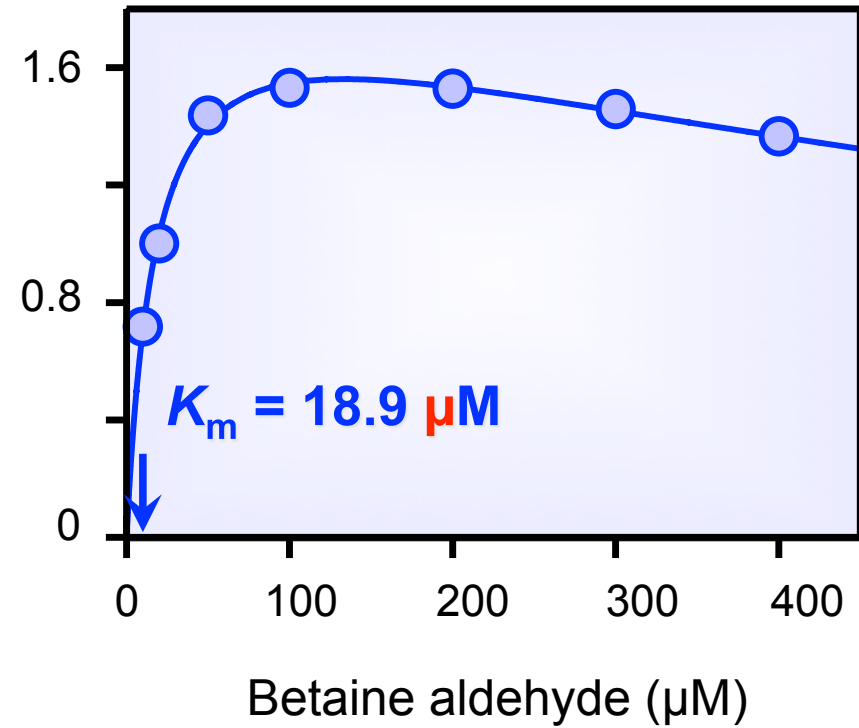
Days of salt stress

オオムギBADHのベタインアルデヒドに対する親和性

HvBADH1



HvBADH2



HvBADH2が主にベタインアルデヒド酸化

HvBADH2はサイトソルに局在する

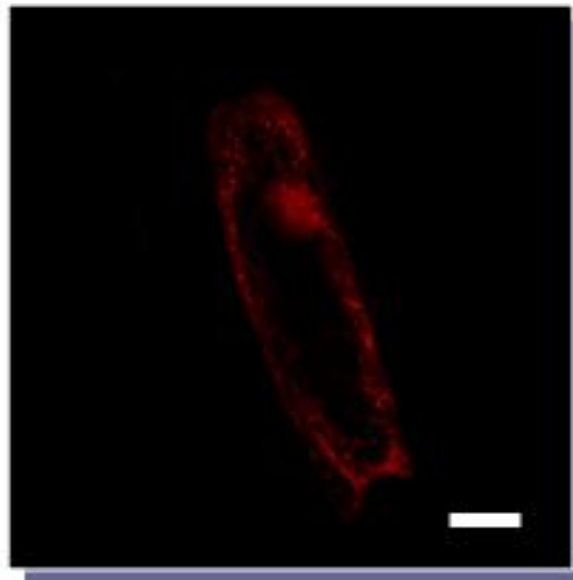
HvBADH2-GFP
融合タンパク質

mRFP-SRL

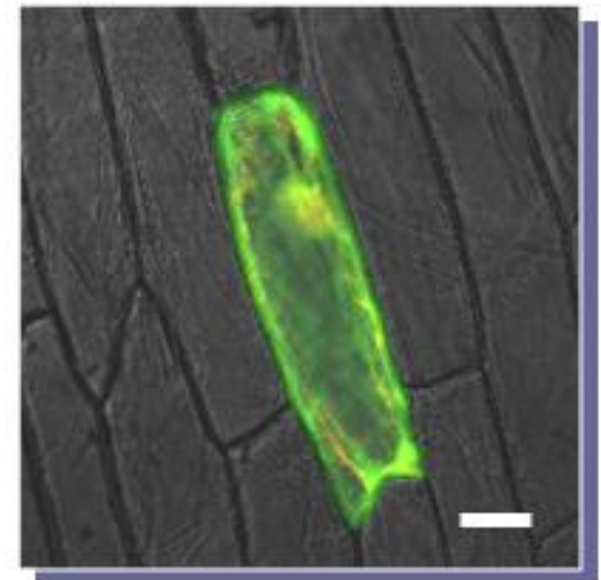
merged



サイトソル



(ペルオキシソーム)



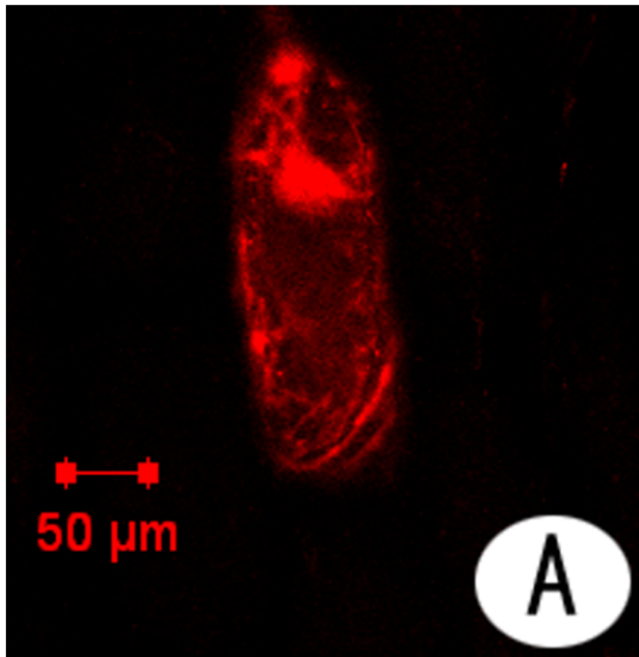
bar = 50 μ m

HvCMOは小胞体に局在する

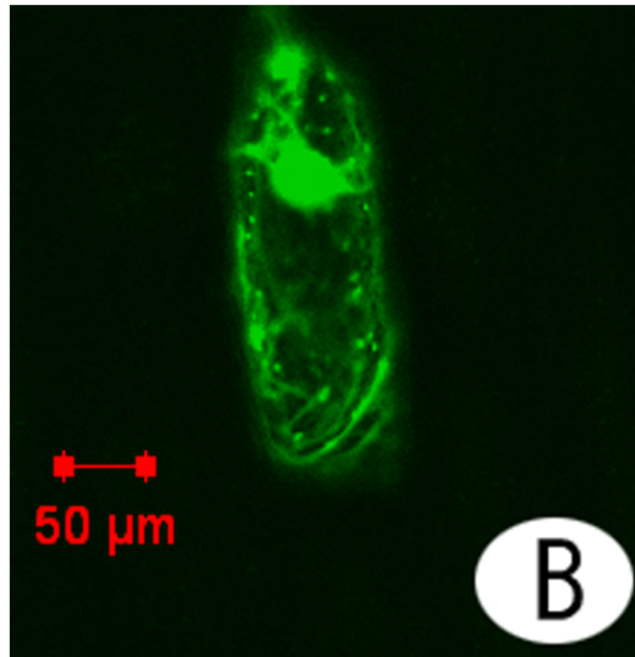
sp-mRFP-HDEL

HvCMO-GFP
融合タンパク質

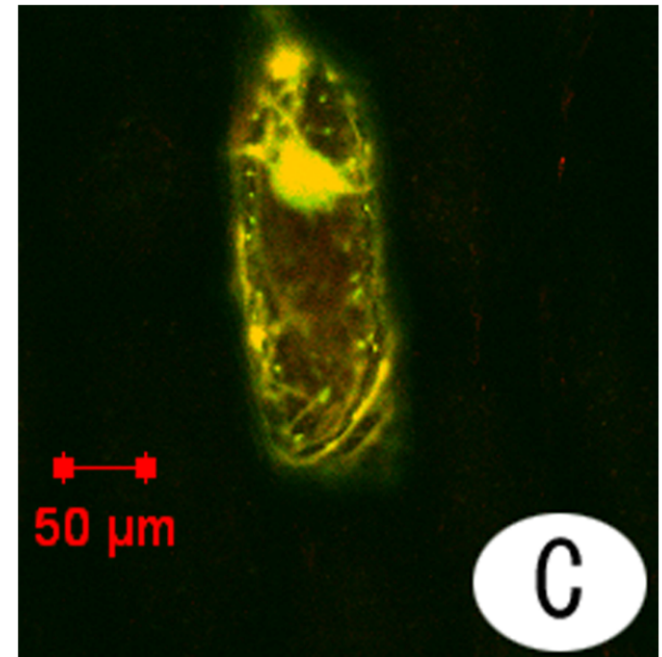
merged



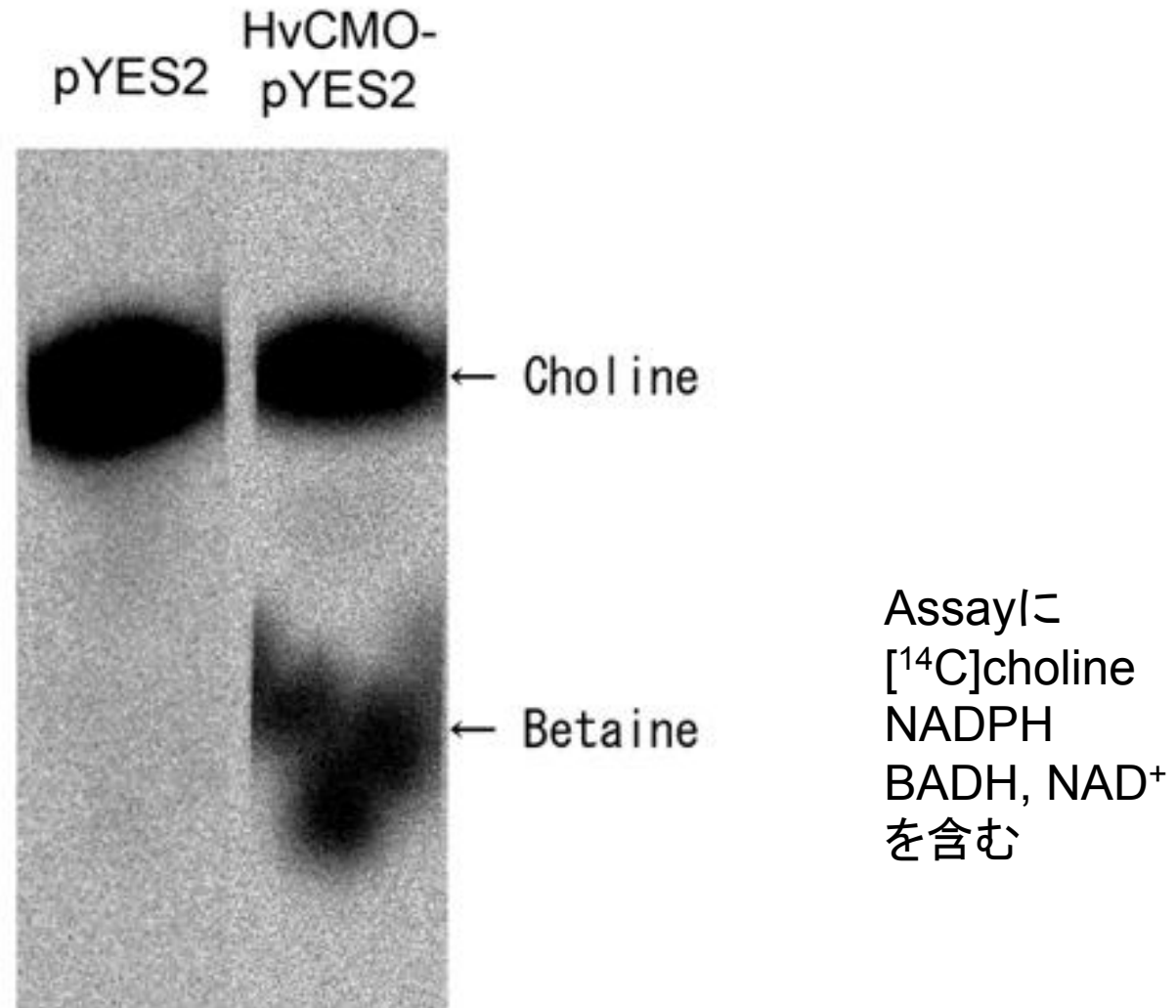
ER



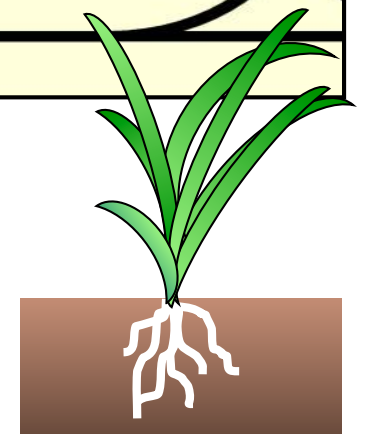
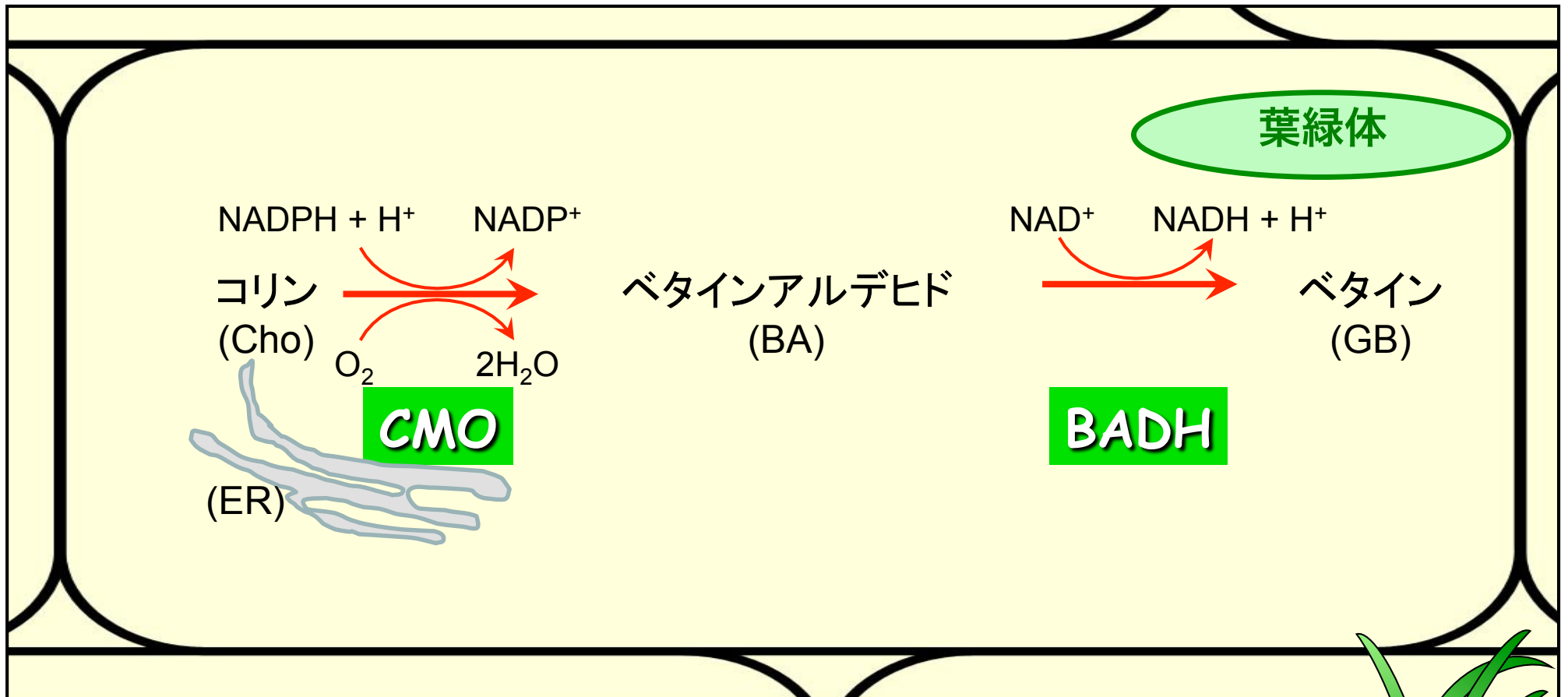
ER



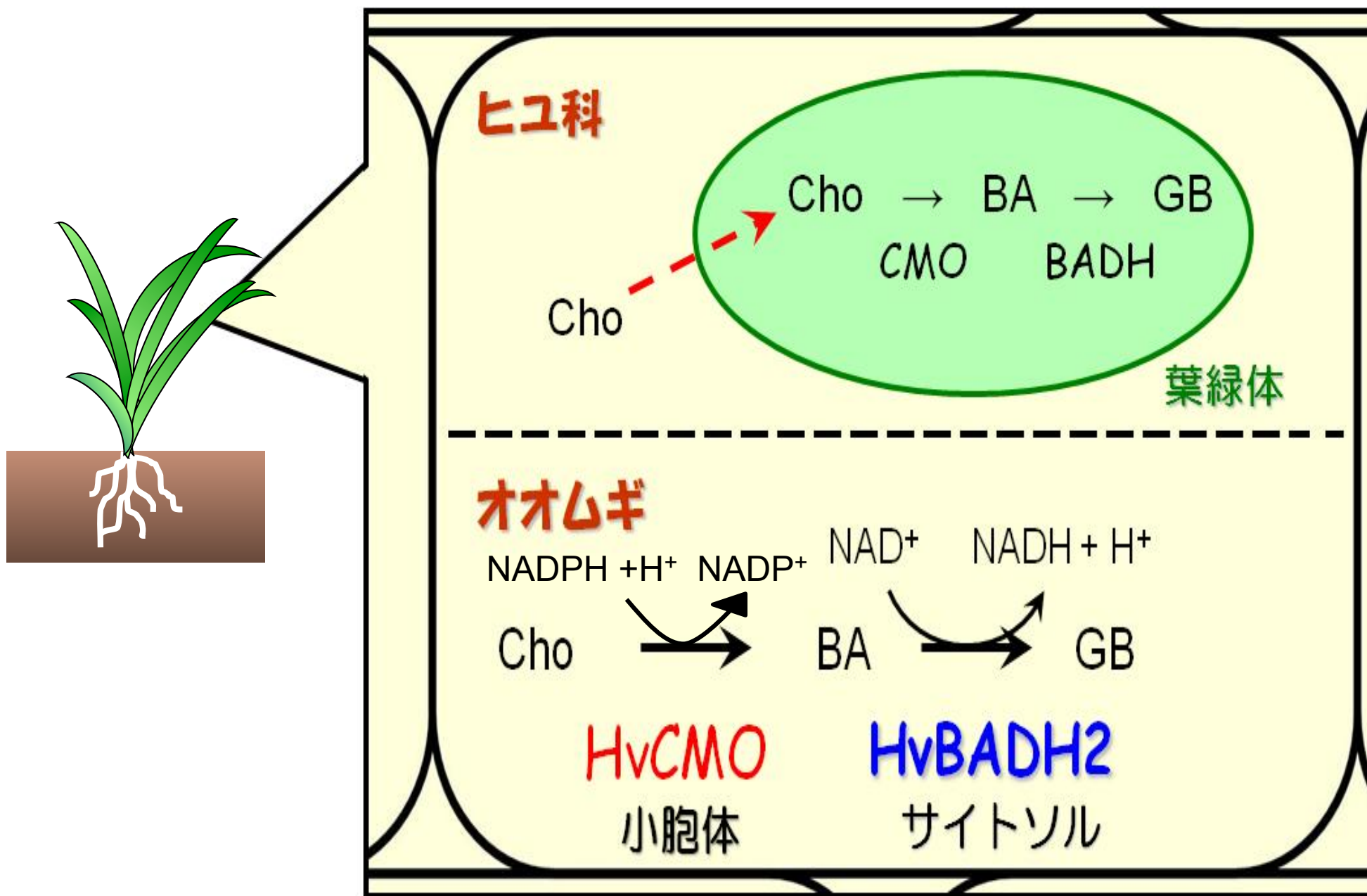
リコンビナントHvCMOはコリンを酸化する



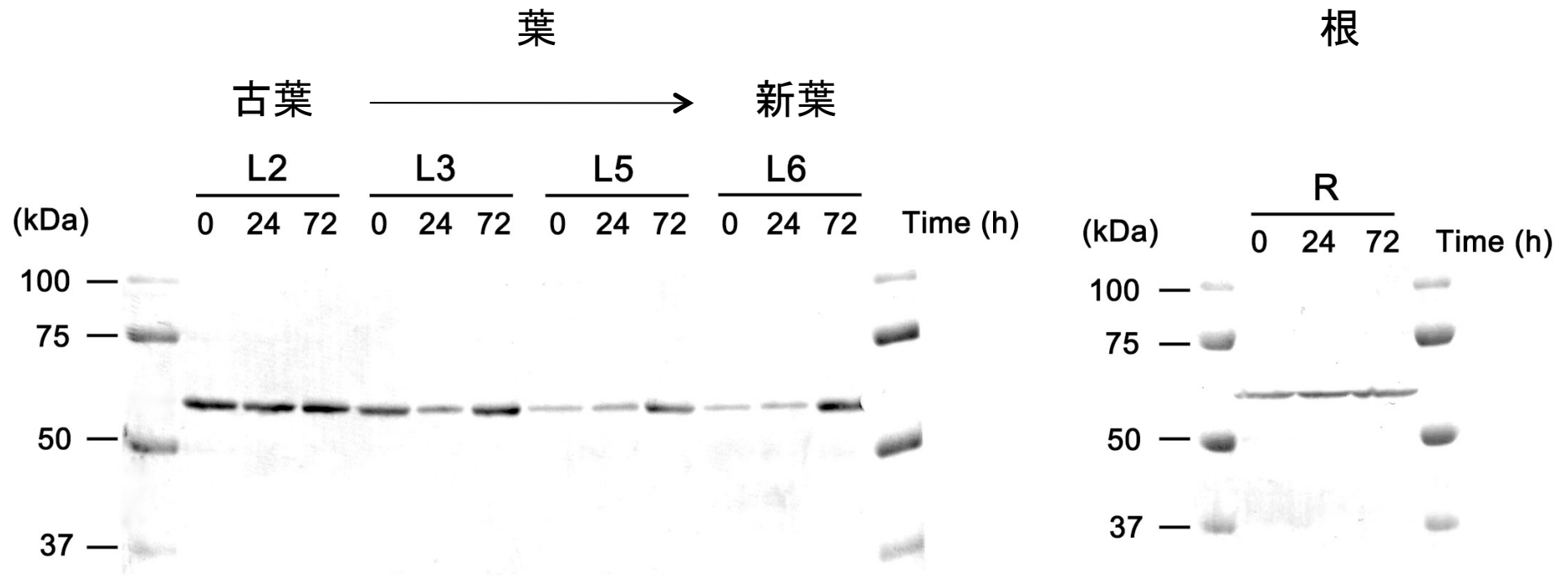
オオムギにおけるベタイン合成経路



ベタイン合成の細胞内局在性

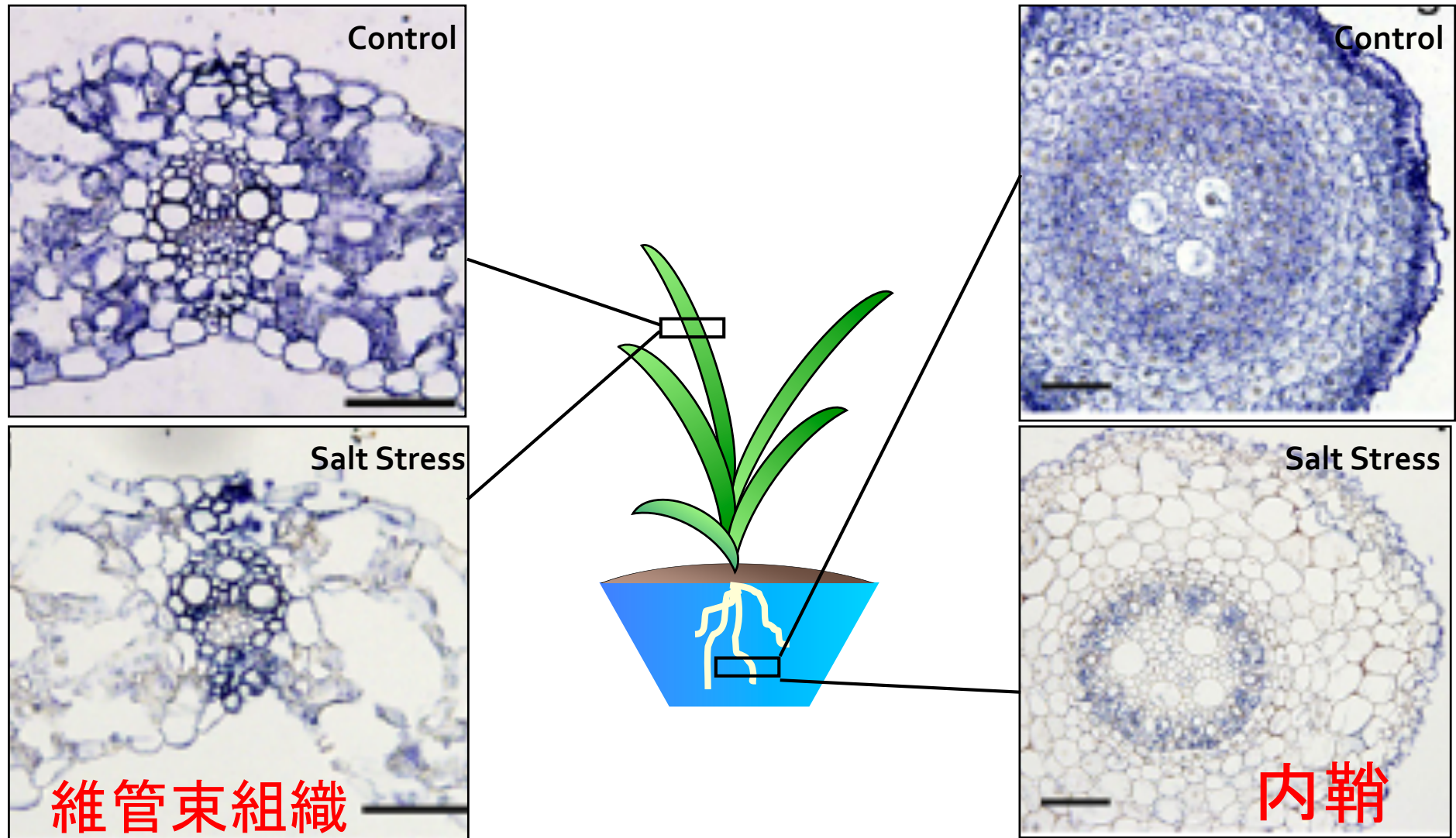


塩、乾燥ストレスによりBADHタンパク質は増加する



Plant Sci. 2009
Plant Cell Physiol. 1992

ベタイン合成酵素の組織内局在性



オオムギにおけるベタイン輸送機構の解明

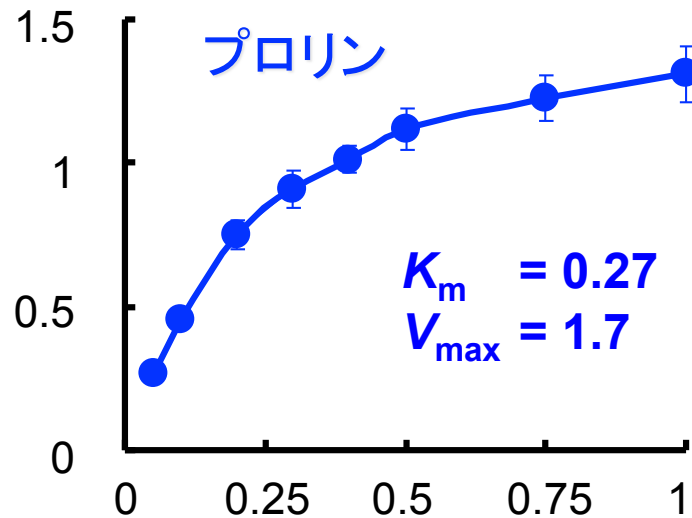
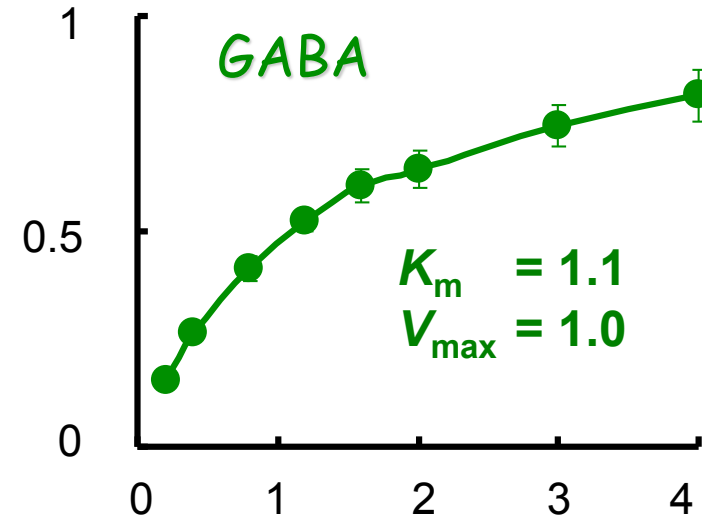
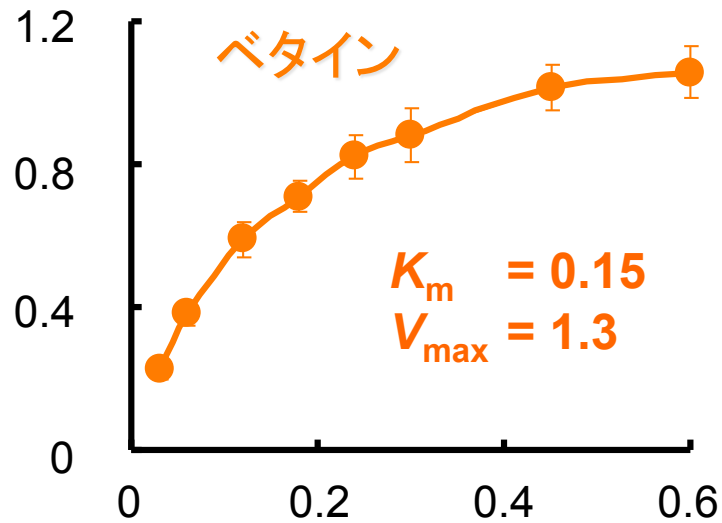
オオムギ ベタイン輸送体タンパク質遺伝子の単離

HvGB/ProT1

(*H. vulgare* glycine betaine/proline transporter 1)

HvGB/ProT1タンパク質はベタインを輸送する

縦軸: $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g FW}$ 横軸: mM

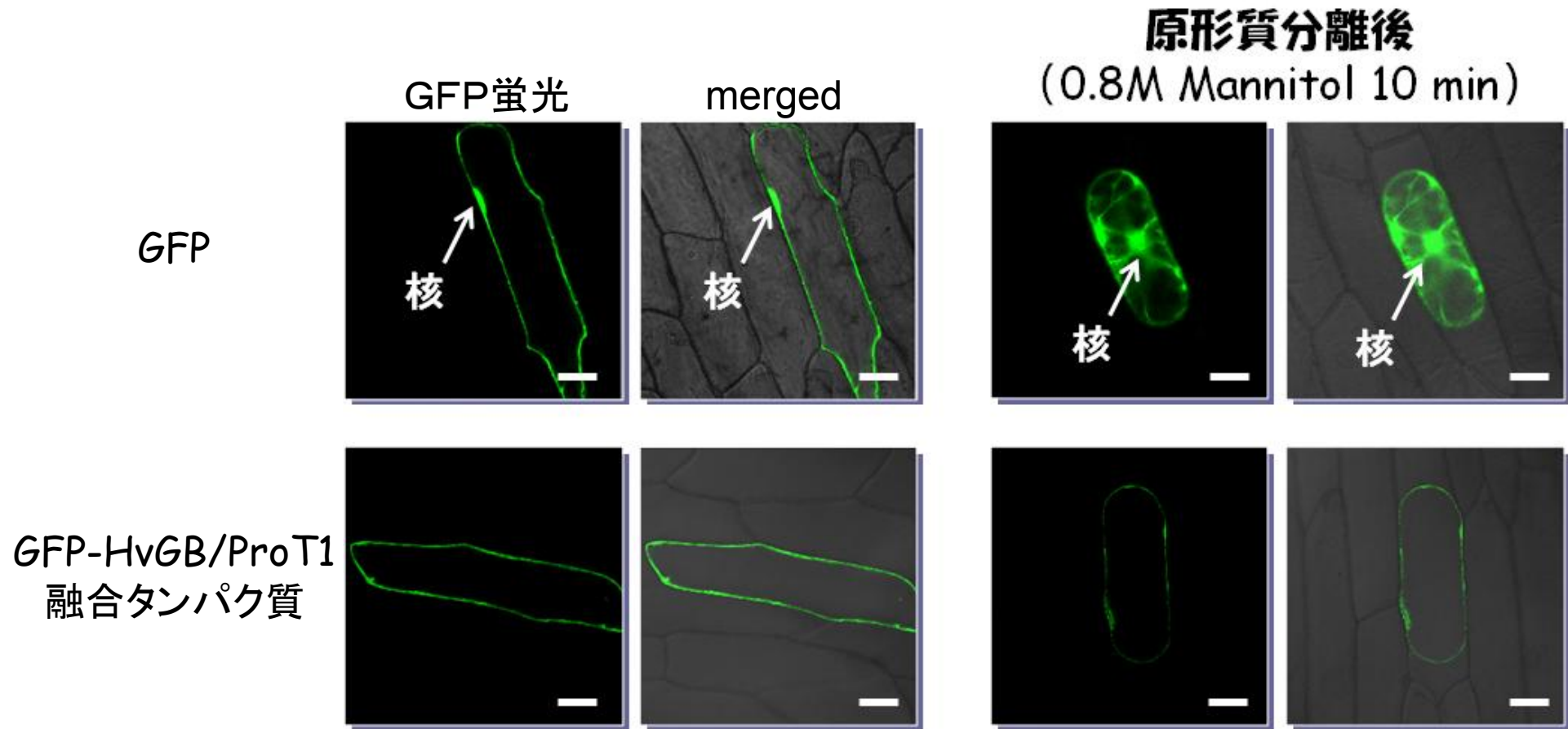


HvGB/ProT1



ベタインやプロリンに対して
高親和性

HvGB/ProT1は細胞膜に局在する

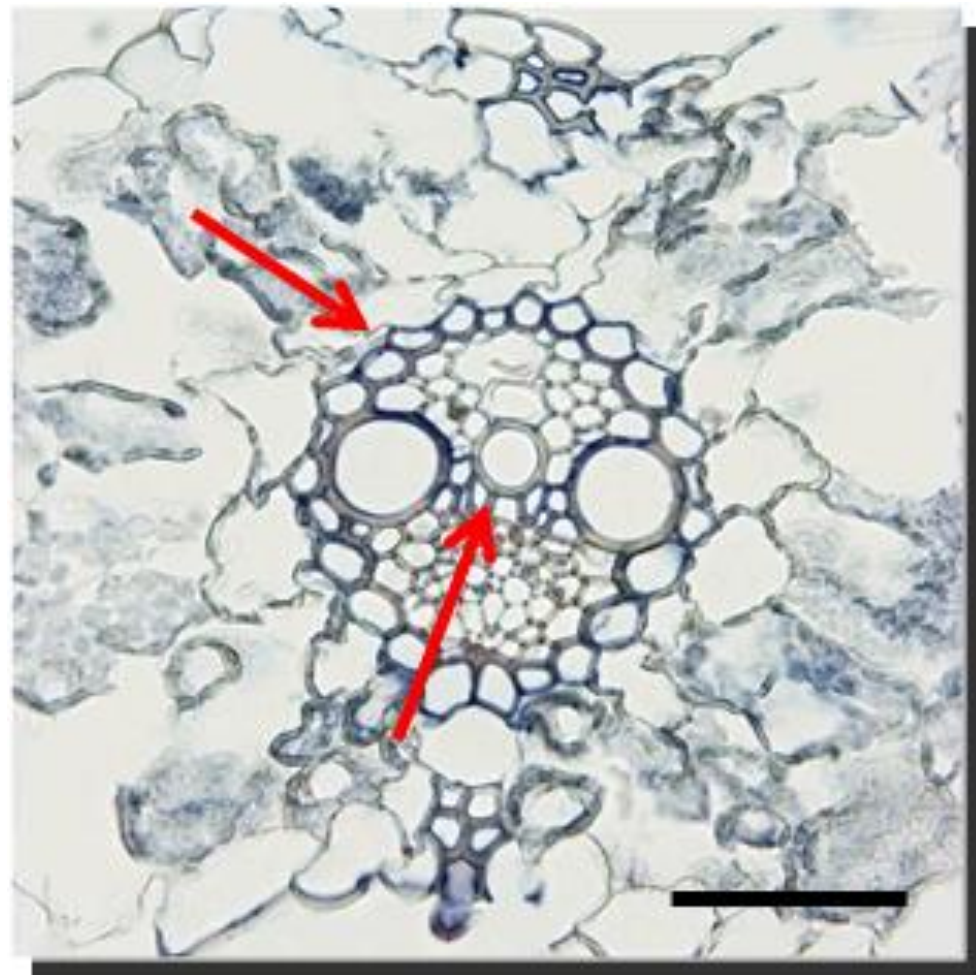
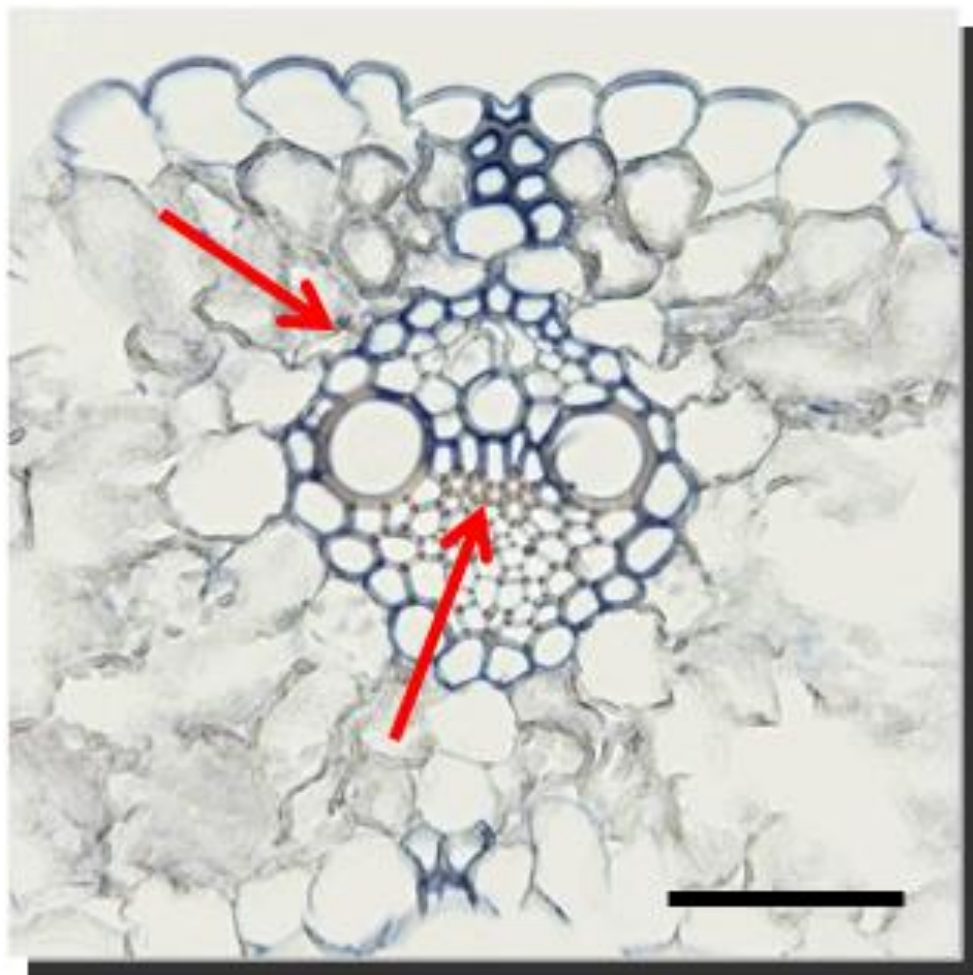


bar = 50 μ m

HvGB/ProT1 遺伝子の組織特異的発現(葉)

対照区

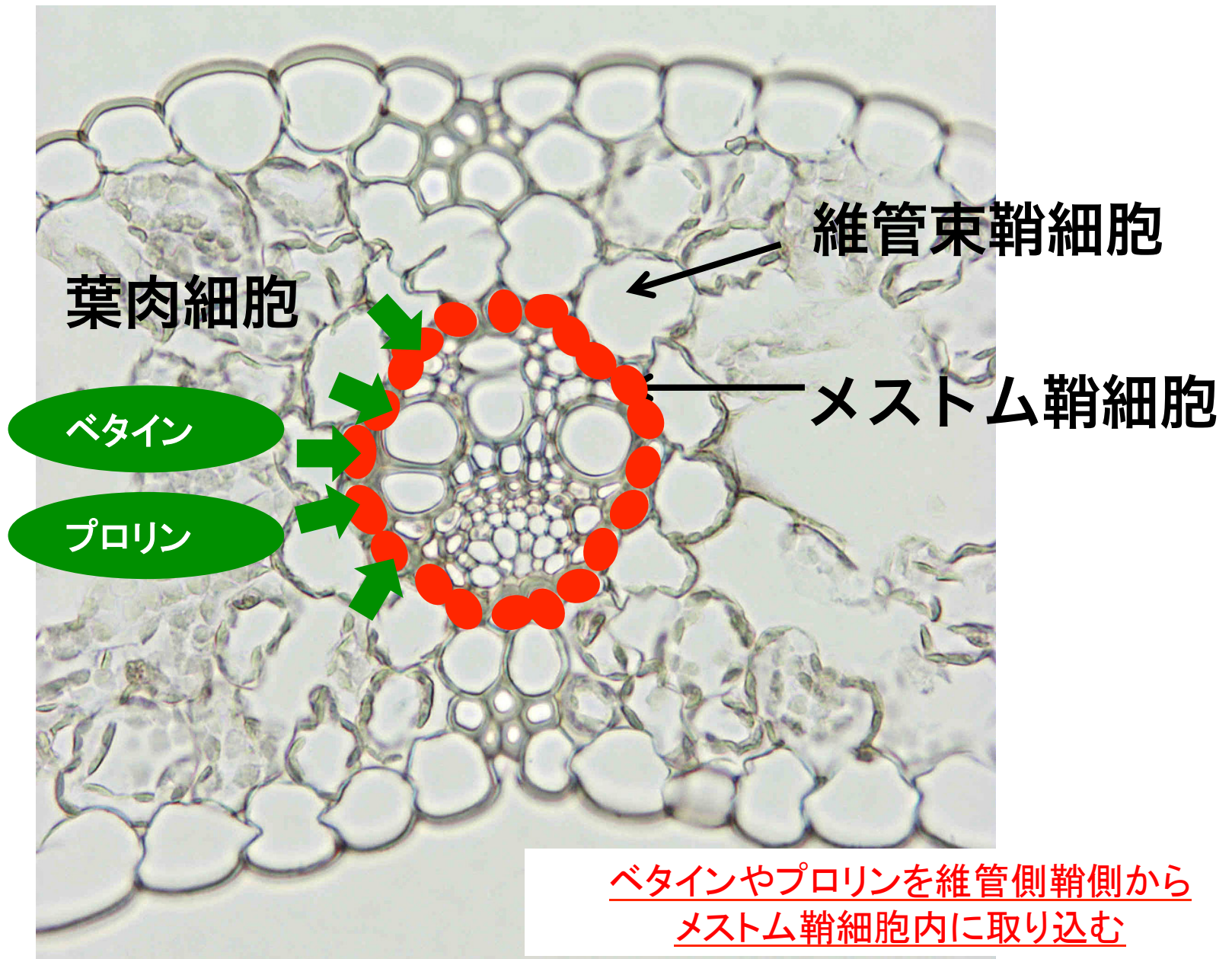
塩ストレス区



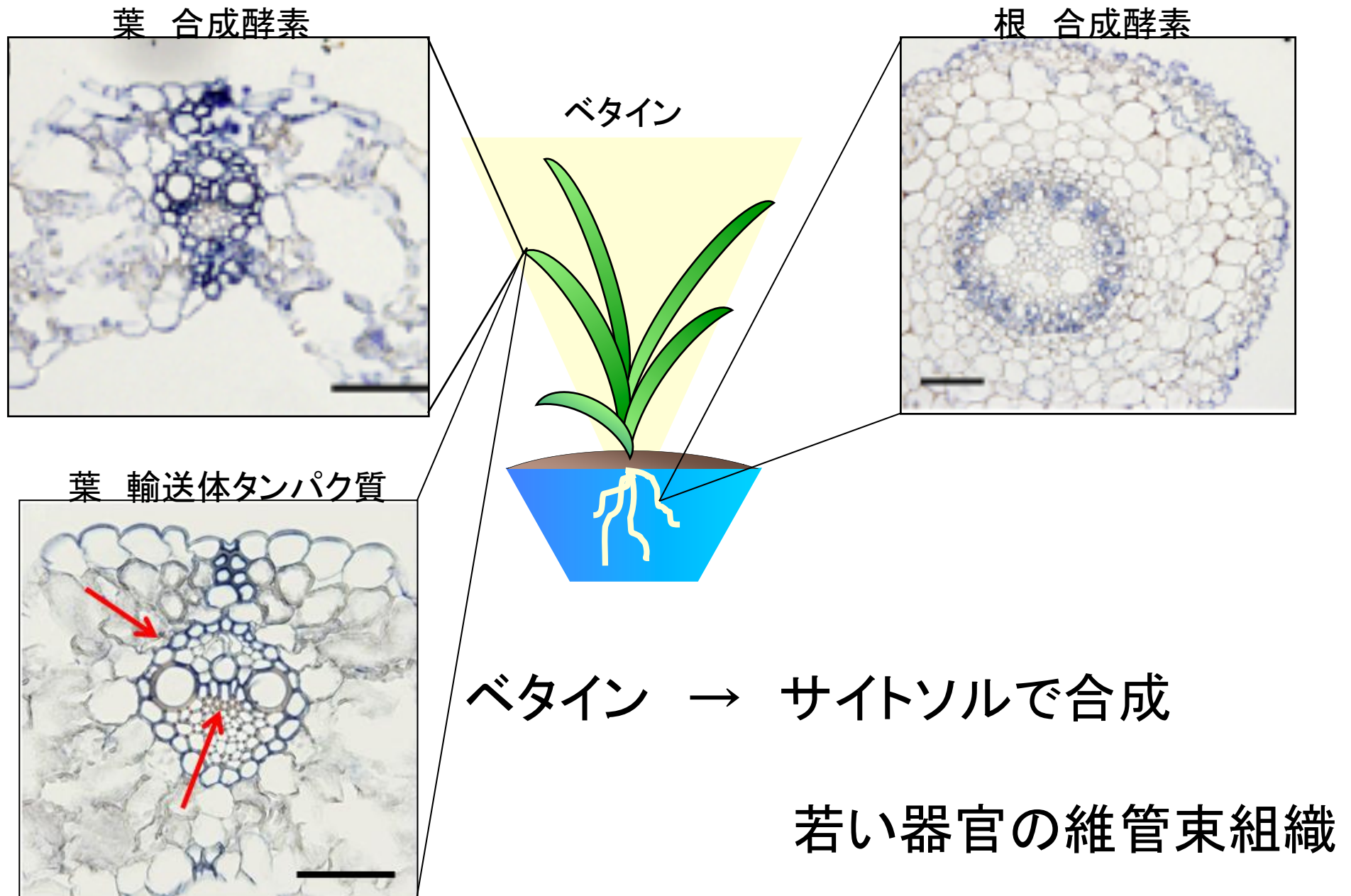
bar = 50 μ m

メストム鞘細胞において発現

予想されるHvGB/ProT1の生理的役割



オオムギの耐塩性におけるベタインの役割

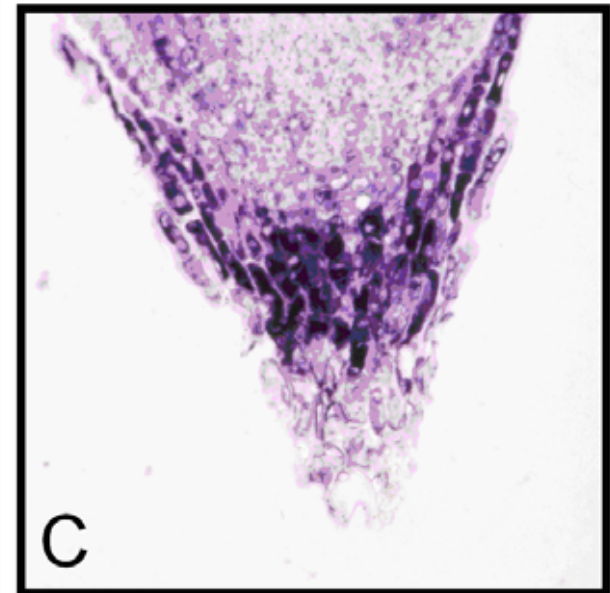
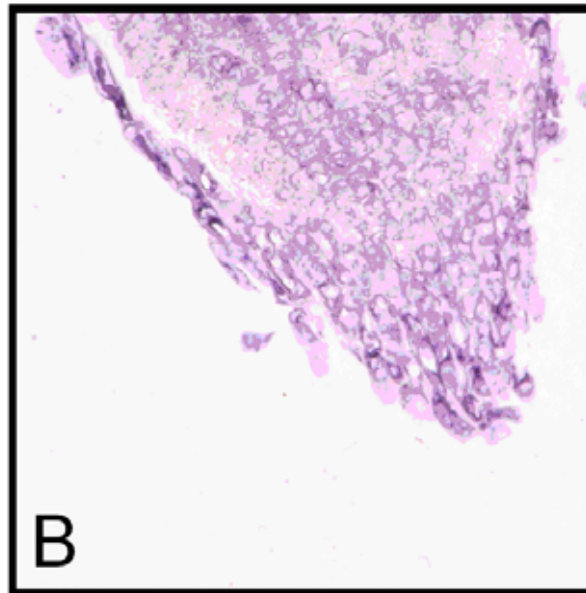
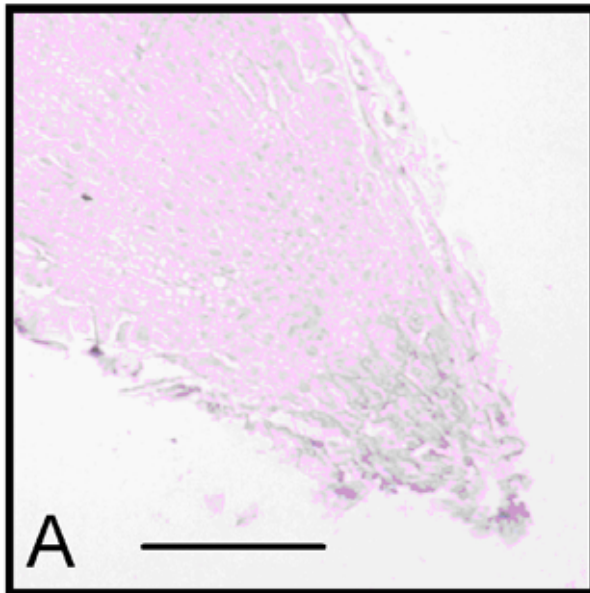


プロリン特異的輸送体HvProTタンパク質は 根冠細胞で発現する

免疫前血清

非ストレス条件下

塩ストレス下



*HvProT*を発現させたシロイヌナズナは使用するプロモーターの種類により異なる生長を示す

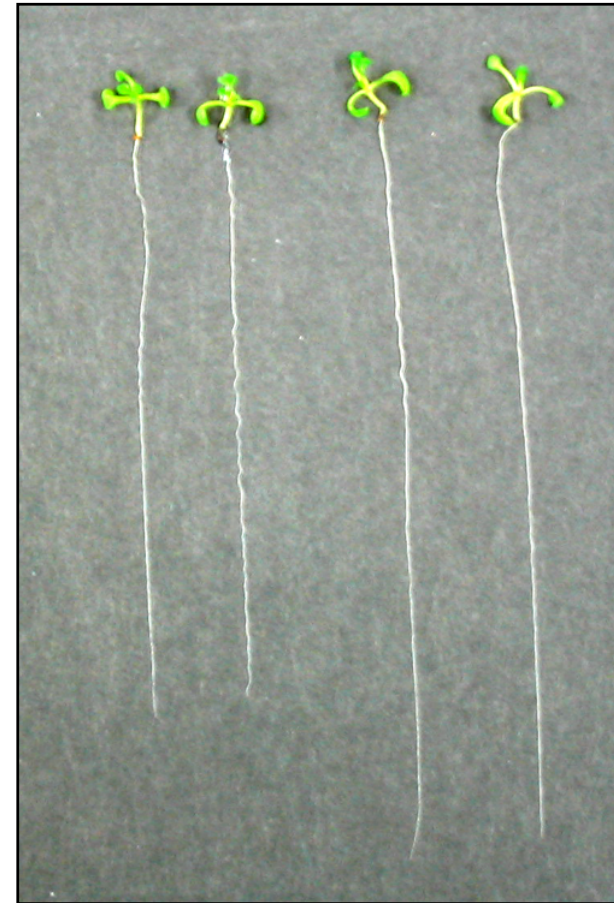
野生株

過剰発現株



野生株

根冠特異的
発現株

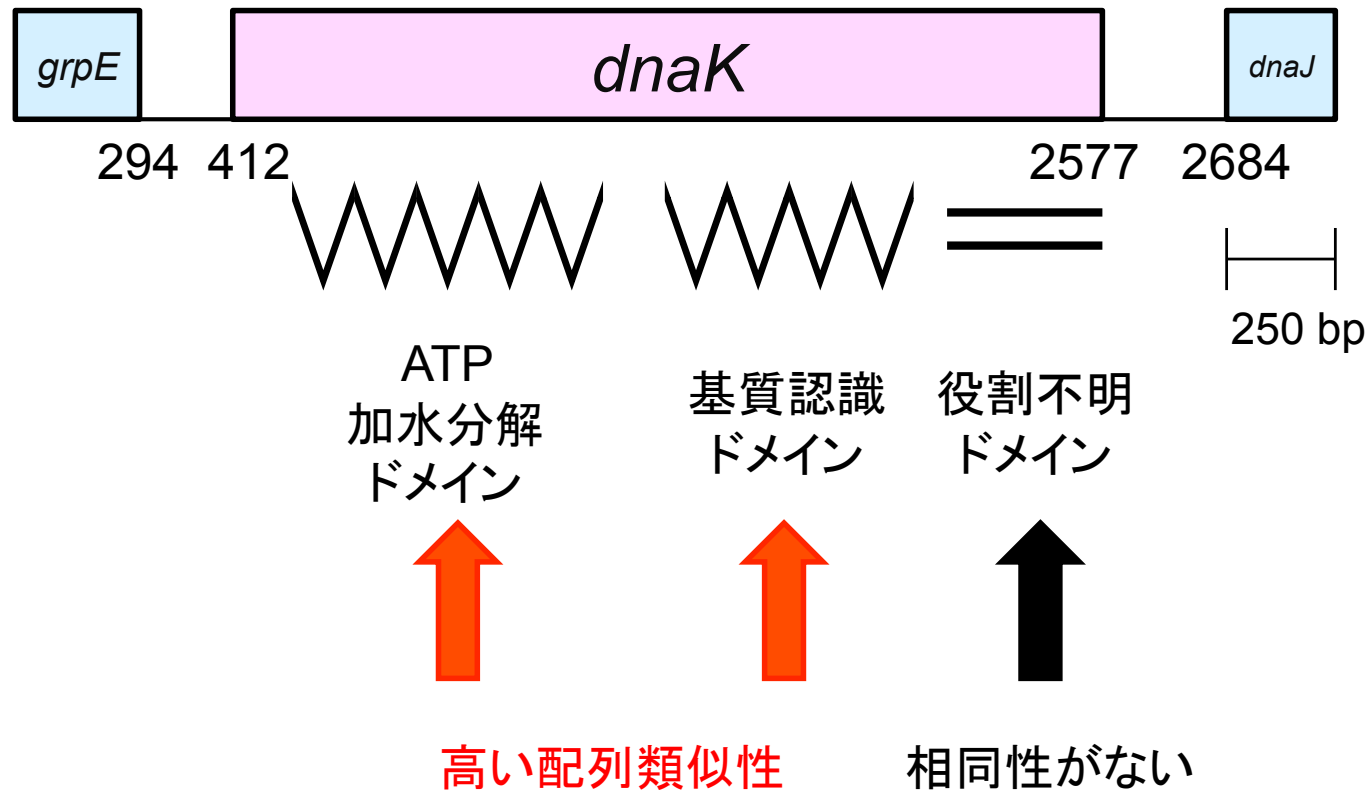




日本学術振興会未来開拓学術研究推進事業
組換え植物隔離圃場
Environmentally Isolated Field of r-DNA Plants
関係者以外立入禁止
東北大学農学部附属農場
Experimental Farm of Tohoku Un

97 8 18

耐塩性ラン藻 *Aphanothece halophytica* *dnaK* 遺伝子のクローニング



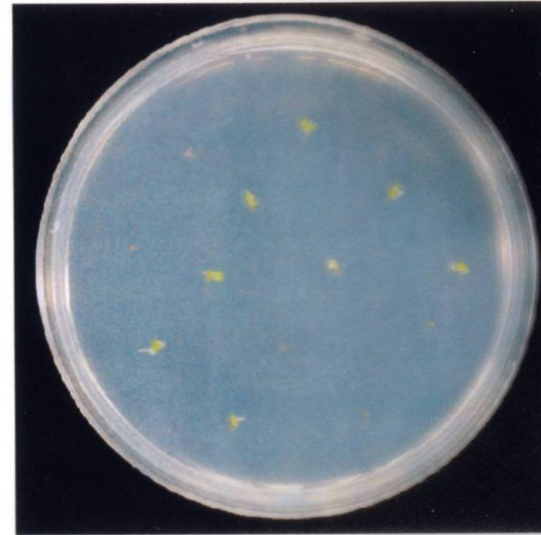
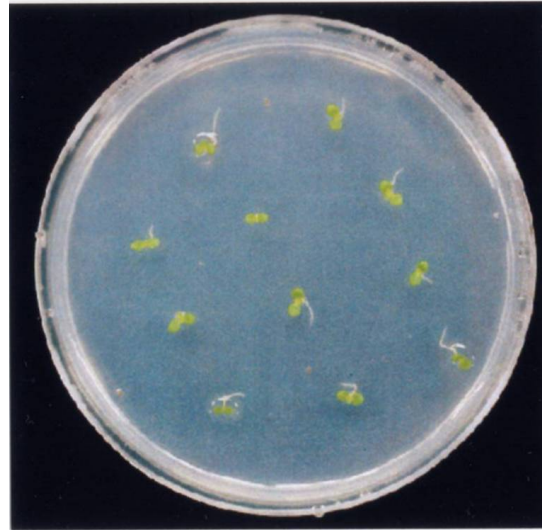
* *grpE*, *dnaK*, *dnaJ*が隣り合って存在する配列は、これまで *Bacillus subtilis*のみで報告されており、光合成生物では初めてである

*DnaK*形質転換タバコは耐暑性が向上する

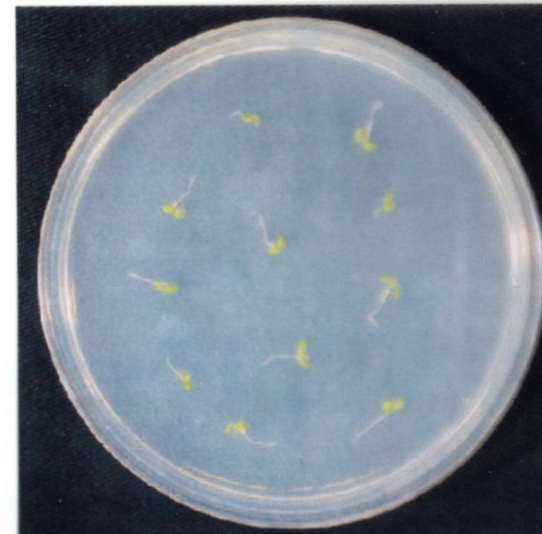
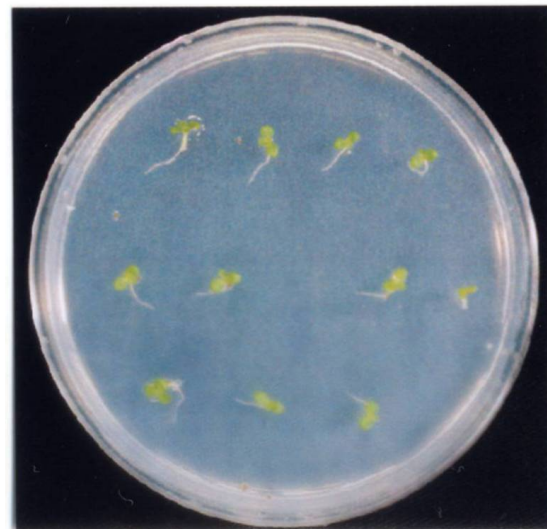
27°C

40°C

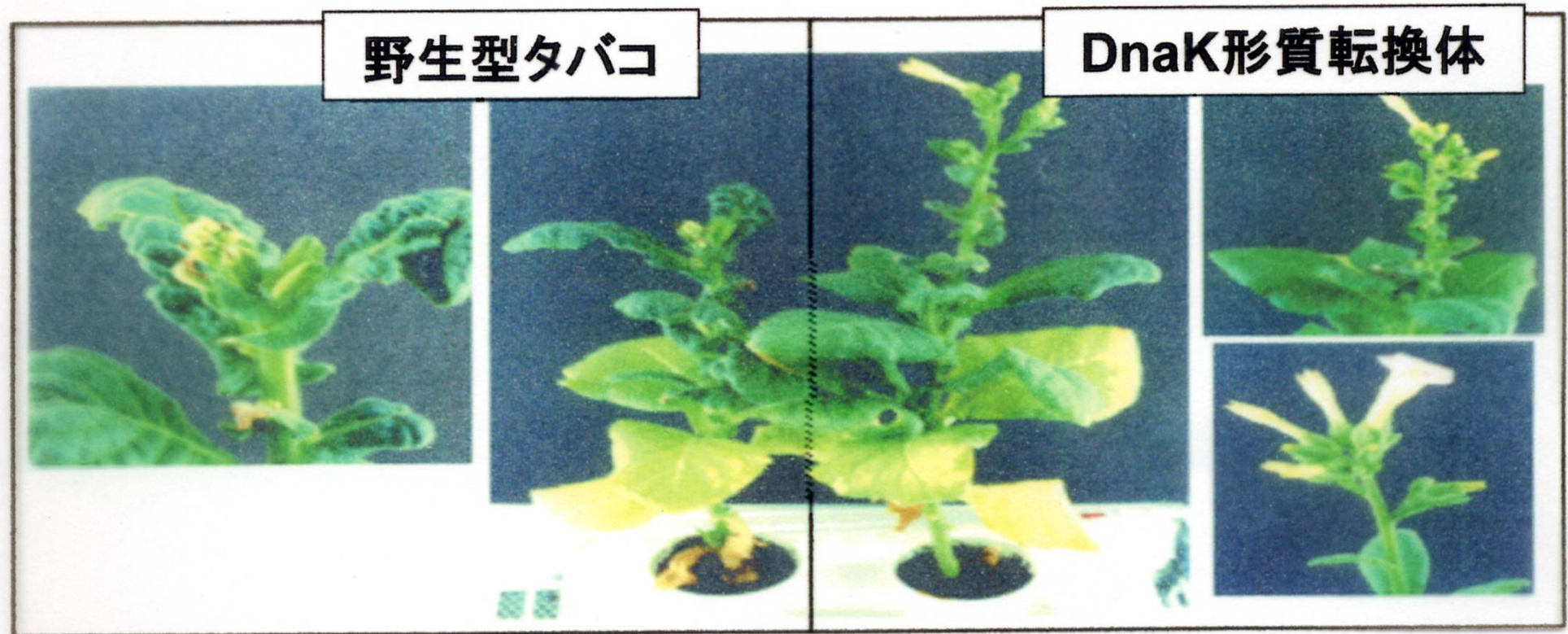
Control 株



DnaK 株



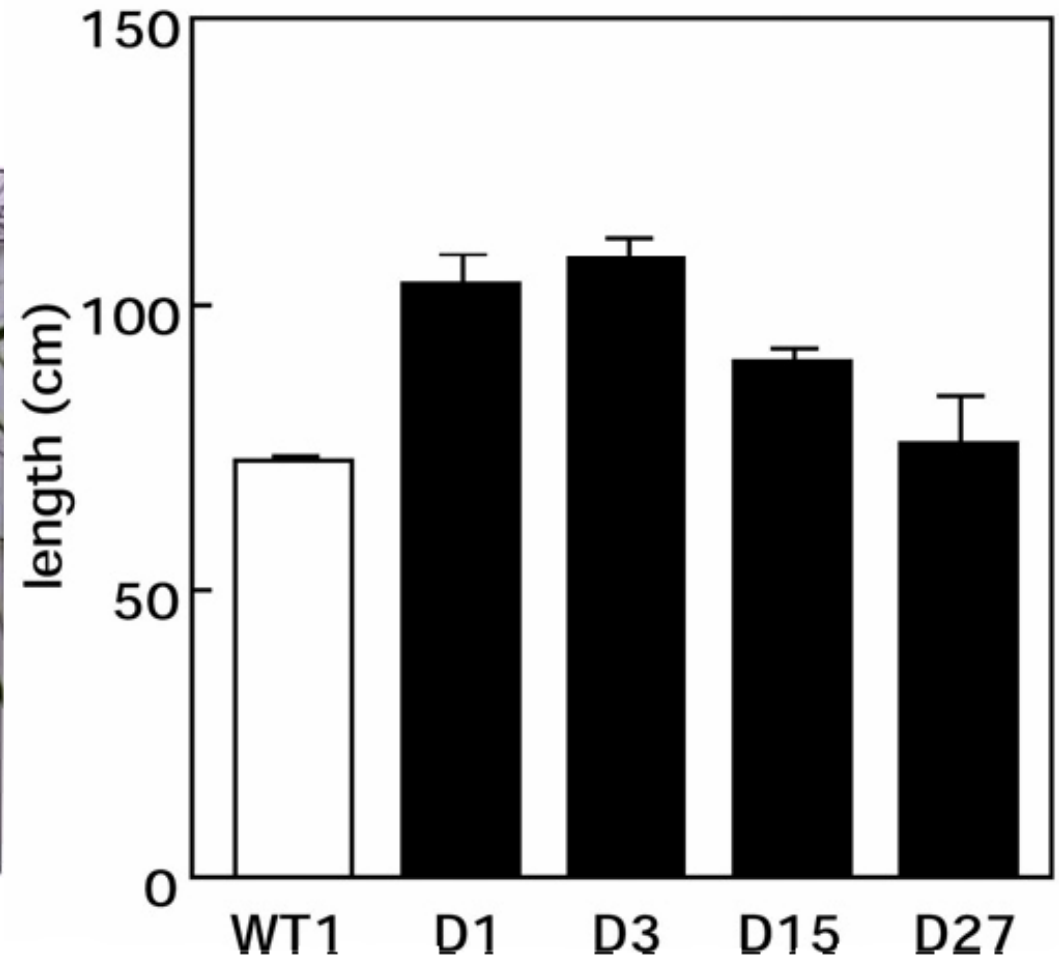
*DnaK*形質転換体と野生型タバコの生殖期における高温の影響



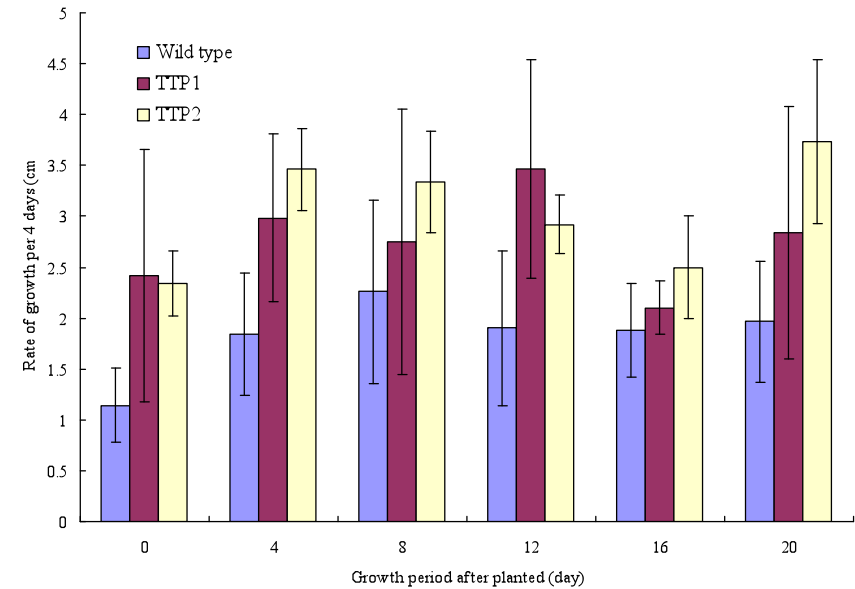
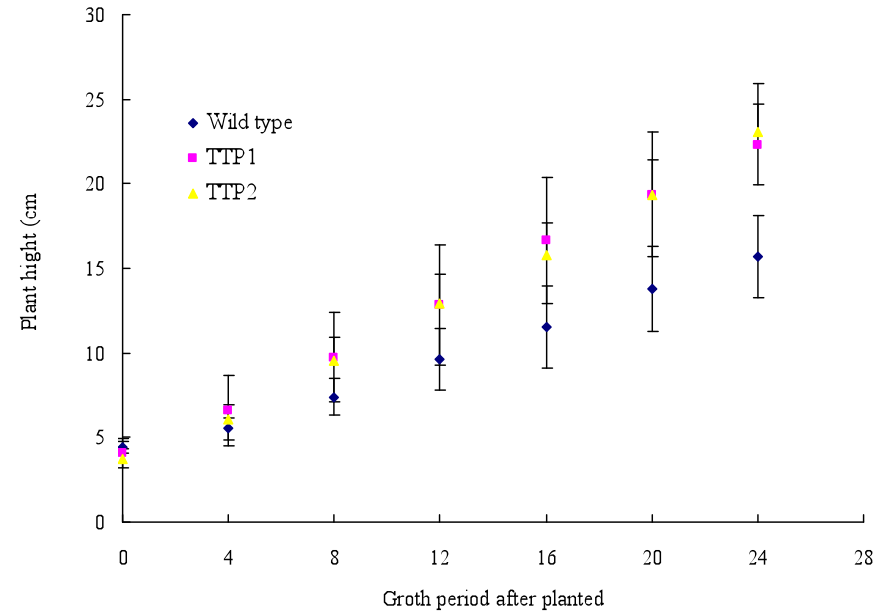
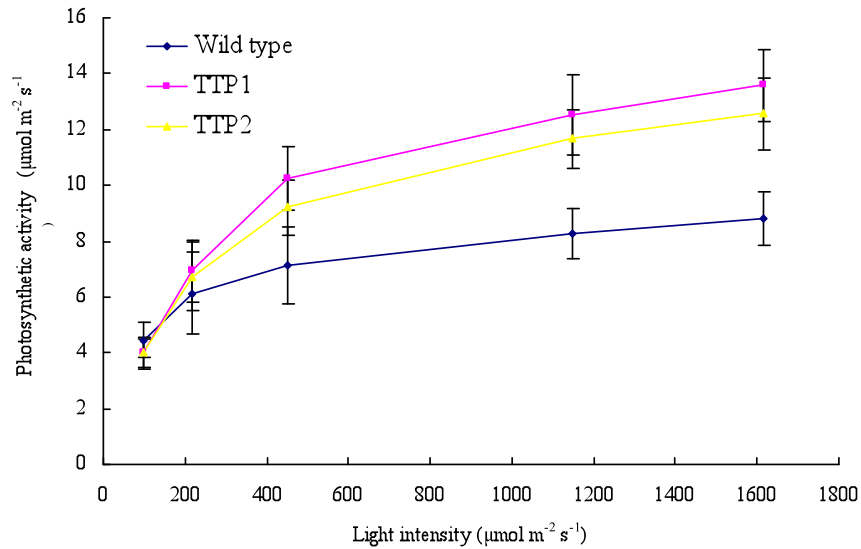
*DnaK*形質転換イネは成長増加を示す

Control

*dnaK*形質転換イネ



DnaK形質転換ポプラの生育と光合成活性



DnaK形質転換ポプラは耐熱性が向上する

応用は20~30年後



WT

TTP1

TTP2

農学部の方へ

39年間、ありがとうございました！

有機農業・無農薬野菜
こんにちは！

