

平成 31 年 2 月 19 日

愛 媛 大 学

悪役とされる「活性酸素」を上手に使う植物のしくみ

植物の活性酸素種生成酵素タンパク質 Rboh の網羅的解析

～十人十色の酵素が適材適所で活躍する～

活性酸素は、呼吸に伴ってできる副産物で、加齢・癌などに関わる「悪い物質」として広く知られています。光合成の過程でも活性酸素が発生してしまう植物ではさらに深刻で、植物は活性酸素の害から身を守るためにさまざまな抗酸化物質を持ちます。植物にビタミン C が多く含まれているのはそのためだと考えられています。一方で、植物はこの活性酸素をわざわざ作り、様々な場面で活性酸素を活用しています。

愛媛大学大学院農学研究科食料生産学専攻の賀屋秀隆 准教授（元 東京理科大学 助教）・東京理科大学理工学部応用生物科学科の朽津和幸 教授・京都府立大学の武田征士 准教授らの研究グループは、これまでに活性酸素を積極的に生成する酵素タンパク質 Rboh が、根毛（根に生える細かい毛）や、花粉管の先端成長の過程で、重要な働きを持つことを明らかにしてきました。モデル植物であるシロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) には、Rboh が 10 種類あり、上記のようにそのうちいくつかについては機能が明らかになっていましたが、これまで全種類を比較した例はなく、それぞれの活性の違い、機能分担については不明でした。

今回、シロイヌナズナ的全種類の酵素タンパク質を網羅的に解析し、同種の酵素であっても多様な性質があり、様々な生命現象に適材適所で機能していることを明らかにしました。この仕組みを利用することで、将来的に生育・生殖効率の高い植物や病気に強い植物を作る一助となると期待されます。

この研究成果は、国際学術誌 "The Plant Journal"（プラントジャーナル）に 2018 年 12 月 20 日に暫定版がオンライン掲載され、2019 年 2 月 14 日に最終版が掲載されました。

つきましては、是非ご取材くださいますようお願いいたします。

記

掲載誌：The Plant Journal

DOI：10.1111/tpj.14212

題名：Comparative analyses of ROS-producing enzymatic activity of Arabidopsis NADPH oxidases

著者：Hidetaka Kaya, Seiji Takeda, Masaki J. Kobayashi, Sachie Kimura, Ayako Iizuka, Aya Imai, Haruka Hishinuma, Tomoko Kawarazaki, Kyoichiro Mori, Yuta Yamamoto, Yuki Murakami, Ayuko Nakauchi, Mitsutomo Abe, Kazuyuki Kuchitsu

本件に関する問い合わせ先

愛媛大学大学院 農学研究科 食料生産学専攻
准教授 賀屋 秀隆

TEL: 089-946-9206

E-mail: kaya.hidetaka.hu@ehime-u.ac.jp

※ 送付資料 5 枚（本紙を含む）

悪役とされる「活性酸素」を上手に使う植物のしくみ

植物の活性酸素種生成酵素タンパク質 Rboh の網羅的解析 ～十人十色の酵素が適材適所で活躍する～



【研究概要】

1. シロイヌナズナにある 10 種類の酵素 (Rboh) タンパク質は Ca^{2+} により活性化する。

各種類を個別にヒト培養細胞 HEK293T 細胞に発現させ、細胞内の Ca^{2+} 濃度を上昇させる薬剤 (イオノマイシン) を添加した結果、以下の点が明らかになった

- ① 全ての Rboh タンパク質は、 Ca^{2+} により活性化し、活性酸素種を生成する。
- ② 活性が最も高い RbohH と最も低い RbohB との間には、100 倍もの差がある (右グラフ)。
- ③ Rboh タンパク質は、自身がリン酸化されることによっても活性化し、活性酸素種を生成する。
- ④ Ca^{2+} による活性化とタンパク質リン酸化による活性化では、酵素活性の順位及び活性化パターンが異なる。

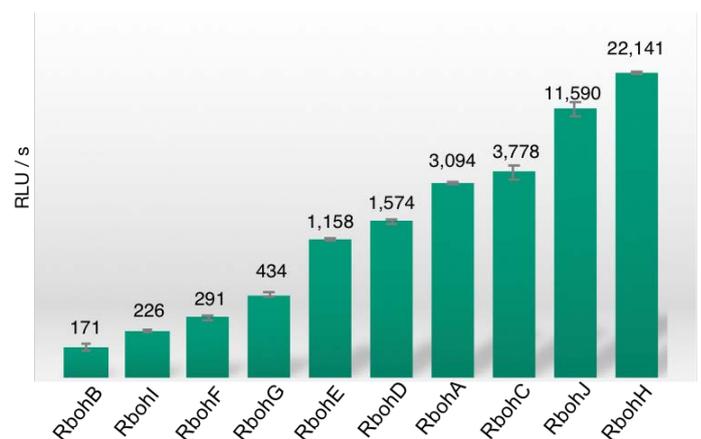


図1. シロイヌナズナRbohタンパク質の酵素活性の比較

縦軸は対数表記。1秒当たりの活性酸素種の生成量を示している。酵素活性の最も高いRbohHと最も低いRbohBでは、100倍以上の差がある。

2. 根毛の先端伸長に関わる RbohC、花粉管の先端伸長に関わる RbohH と RbohJ との機能の互換性

シロイヌナズナの突然変異体を用いて解析した結果、

- ① Ca^{2+} による酵素活性は、 $RbohH > RbohJ > RbohC$ であるにもかかわらず RbohC は RbohH, RbohJ の機能を相補できたが、RbohH, RbohJ は RbohC の機能を相補できないことが明らかになった (図 2, 3)。このことは、 Ca^{2+} 、タンパク質リン酸化に加え、複雑な制御によって Rboh の活性化が制御されていることを示唆する。

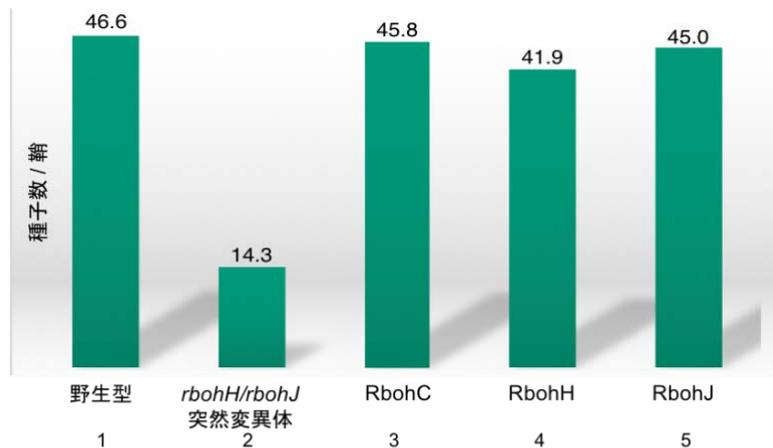


図2. RbohCによる花粉管伸長の相補検定実験

野生型では、花粉管の伸長が正常なため、1本の鞘につくられる種子数が多い(1)。RbohHとRbohJの機能が失われた突然変異体 (*rbohH/rbohJ*)では、花粉管伸長に異常があるため、種子の数が減少する(2)。この突然変異体の異常をRbohHあるいはRbohJ自身では、機能を補えるので、種子の数は野生型並みになる(4, 5)。RbohH, RbohJよりも酵素活性の低いRbohCでも種子数は野生型並みであることから、RbohCは、RbohH, RbohJの機能を補えることができると考えられる(3)。

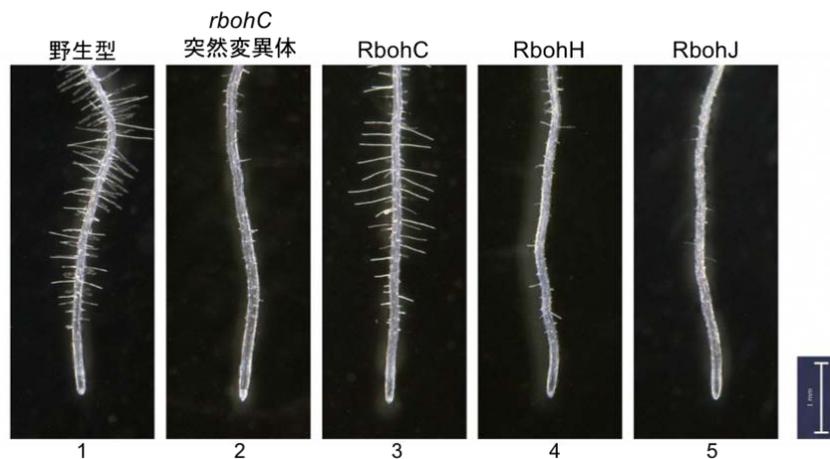


図3. RbohH, RbohJによる根毛伸長の相補検定実験

野生型の根では、主根の横側に根毛が伸びている(1)。RbohC機能が失われた突然変異体 (*rbohC*)では、根毛が伸びない(2)。この突然変異体の異常をRbohC自身では機能を補えるので、根毛が伸びる(3)。しかし、RbohCよりも酵素活性の高いRbohH, RbohJでは根毛が伸びないことから、RbohH, RbohJは、RbohCの機能を補えないと考えられる。



問：活性酸素種を生成するという同種の酵素をシロイヌナズナは、なぜ 10 種類も揃えているのか？

答：シロイヌナズナ Rboh を選ぶ。

毒ともなる活性酸素を様々な生命現象において活用する際、ちょうどいい量の活性酸素を生成するため、10 種類の Rboh を巧みに使い分けるためと考えられる。

【用語説明】

活性酸素種 (ROS) : Reactive Oxygen Species の略。酸素分子から成る反応性の高い化合物。過酸化水素、スーパーオキシドアニオンラジカル、ヒドロキシラジカルなどの総称。活性酸素種は、呼吸や光合成の際に副産物として生成され、生体内においては DNA を損傷させるなどして細胞毒性をもつ。一方、生物は、様々な生命現象において活性酸素種を積極的に生成し、利用している。

Rboh タンパク質 : Respiratory burst oxidase homologues の略。植物において活性酸素種を生成する酵素タンパク質。シロイヌナズナには、10 種類の Rboh タンパク質が存在する。

シロイヌナズナ : 学名 *Arabidopsis thaliana*, 1 年生草本の双子葉植物。植物の分子生物学的研究では最もよく利用されている。サイズは 30 cm 程度、室内の蛍光灯下で栽培可能。

HEK293T 細胞 : ヒトの腎細胞から作られた培養細胞。遺伝子の機能を調べる際、よく利用される培養細胞の 1 種。

【研究グループ】

東京理科大学 理工学部 応用生物科学科 朽津和幸 教授 (大学院理工学研究科 農理工学際連携コース長、イメージングフロンティアセンター 副センター長)

愛媛大学大学院 農学研究科 賀屋秀隆 准教授 (元 東京理科大学理工学部 助教)

京都府立大学 生命環境科学部 武田征士 准教授

東京大学大学院 理学系研究科 阿部光知 准教授

国際農林水産業研究センター 小林正樹 研究員

元 東京理科大学理工学部 木村幸恵 研究員 (現 フィンランド ヘルシンキ大学 研究員)

【研究サポート】

本研究は、文部科学省・科学研究費補助金・新学術領域研究 (研究領域提案型)「酸素を基軸とする生命の新たな統合的理解」(朽津和幸)、新学術領域研究 (研究課題提案型)「活性酸素種生成酵素の網羅的解析に基づく植物 ROS ダイナミクス・ネットワークの解明」(賀屋秀隆)などの助成を受けて実施しました。



【本研究内容に関するお問合せ先】

- 東京理科大学 理工学部 応用生物科学科 教授 朽津和幸

〒278-8510 千葉県野田市山崎 2641

Tel : 04-7122-9404 e-mail : kuchitsu@rs.noda.tus.ac.jp

- 愛媛大学大学院 農学研究科

食料生産学専攻農業生産学コース分子生物資源学 准教授 賀屋秀隆

Tel : 089-946-9206 e-mail : kaya.hidetaka.hu@ehime-u.ac.jp

- 京都府立大学 生命環境学部細胞工学研究室 准教授 武田征士

Tel : 0774-93-3526 e-mail : seijitakeda@kpu.ac.jp

【当プレスリリースの担当事務局】

- 東京理科大学 研究戦略・産学連携センター (URA センター)

〒162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3

Tel : 03-5228-7440 e-mail : ura@admin.tus.ac.jp

*本資料中の図等のデータはご用意しております。上記 URA センターまでご連絡頂ければ幸いです。