

研究種目： 基盤研究(B)
研究期間： 2007 ~ 2010
課題番号： 19380182
研究課題名(和文) 植物における His 型結合ペプチドの検索と化学生物学的機能の解明
研究課題名(英文) Search for plant His-type binding peptides and elucidation of their chemical and biological functions

研究代表者

原 正和 (HARA MASAKAZU)
静岡大学 ・ 農学部 ・ 教授
研究者番号： 10293614

研究代表者の専門分野：植物生理学
科研費の分科・細目：境界農学・環境農学
キーワード：環境浄化

1. 研究計画の概要

植物による金属汚染土壌の修復は、ファイトレメディエーションの主要課題の一つである。植物の金属結合ペプチドは、ファイトレメディエーションにおける有用なツールと目されている。これまで、植物金属結合ペプチド研究は、ファイトキレーチンやメタロチオネインなどの SH 型金属結合ペプチドを対象に行われてきた。本研究では、非 SH 金属結合ペプチドという新しいカテゴリーを提唱し、特に、ヒスチジンを豊富に含む金属結合ペプチドの発見と化学生物学的な機能の解明を目指した。

2. 研究の進捗状況

申請書で設定した 2 つの研究実施項目 (1) 及び (2) について、計画通りに進めた。

(1) His 型金属結合ペプチドの網羅的スクリーニングとカタログ化：計画した様々なスクリーニングを実施した結果、シロイヌナズナのゲノムに、His 型金属結合ペプチドの候補を複数見出し、AtHIRPs (Arabidopsis thaliana His rich peptides) と命名した。中でも、最も His 含量が高いペプチド AtHIRP1 について、大腸菌によるタンパク質合成に成功し、コバルト、銅、ニッケル、亜鉛、カドミウムと結合することを見出した。特に亜鉛との結合は強固で、高い親和性 ($K_d=0.5\mu\text{M}$) と高い結合キャパシティー ($B_{\text{max}}=12\text{ mol/mol}$) を示すことが分かった。また、AtHIRP1 は、乾燥や浸透圧ストレスによって速やかに誘導され、プラスチドに局在することから、ストレス時の金属ホメオスタシスを制御し、プラスチド発の金属障害を緩和すると考えられる。また、別途、バイオインフォ

マティクス的手法により、シロイヌナズナの全 ORF の His 含量を網羅的に調査できるアルゴリズムを開発した。その情報は、大学内の知的財産管理部局との協議の後に、ネット公開も視野に入れている。

(2) His 型金属結合ペプチドデハイドリンの金属結合特性と新規生理機能の解明：ウンシュウミカン His 型金属結合デハイドリンタンパク質の新しい機能として、世界に先駆けて、亜鉛依存的 DNA および RNA 結合を発見した。結合部位は、本タンパク質の His リッチ領域にあることから、植物の His 型金属結合ペプチドに共通した主要機能として、その普遍性と生理的役割について調査している。さらに、ウンシュウミカンの His 型金属結合デハイドリンのシロイヌナズナホモログとして、AtHIRD1 (Arabidopsis thaliana histidine-rich dehydrin 1) を単離し、調査した。AtHIRD1 は、シロイヌナズナの 10 デハイドリンのうち、最も His 含量が高い。AtHIRD1 は、通常のデハイドリンとは異なり、ストレスによって誘導されないが、形成層の分裂細胞中の未同定なオルガネラにリン酸化タンパク質として存在することがわかった。シロイヌナズナから、4 ステップで AtHIRD1 を精製することに成功し、LC-MS/MS によって同定された。大腸菌発現系によって AtHIRD1 を生産し、金属結合特性を調査したところ、Cu、Ni、Co、Zn と 2 相性の結合を示し、Zn に対して最も高い親和性を示した。AtHIRD1 は、細胞分裂やストレス応答において金属マネジメント機能をもつことが示唆された。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

理由：申請時に設定した2つの項目は、それぞれ、期待通り、またはそれ以上の成果を上げている。(1)では、計画していた生化学的な成果に加え、インシリコのアルゴリズム開発にまで展開することが出来た。(2)では、His型デハイドリンの核酸結合や、AtHIRD1の特徴的な組織分布など、従来想定されなかった興味深い成果が多数得られ、本分野の進展に大きく貢献している。

4. 今後の研究の推進方策

これまで、研究は順調に推進され、引き続き、鋭意研究を進める。すでに、成果は国際誌に4報発表されているが、現在、さらに3報の発表を準備しており、本研究の最終年度内に、それらの発表を完了したい。また、研究が順調であるため、当初の計画段階では、時間内に到達できないと考えていた、His型金属結合ペプチドのファイトレメディエーションへの応用に関する基礎研究も、最終年度内に一部試行したい。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

① Masakazu Hara (2010) The multifunctionality of dehydrins: An overview. *Plant Signaling & Behavior*, in press[査読有]

② Masakazu Hara, Yukie Yatsuzuka, Kyoko Tabata, Toru Kuboi (2010) Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in Arabidopsis but act as herbicides at higher concentrations. *Journal of Plant Physiology*, in press[査読有]

③ Masakazu Hara, Yuri Shinoda, Yasutaka Tanaka, Toru Kuboi (2009) DNA binding of citrus dehydrin promoted by zinc ion. *Plant, Cell and Environment* 32(5), 532 - 541[査読有]

④ Masakazu Hara, Kozo Tokunaga, Toru Kuboi (2008) Isolation of a drought-responsive alkaline α -galactosidase gene from New Zealand spinach. *Plant Biotechnology* 25, 497-501[査読有]

[学会発表] (計4件)

① 鹿島 大樹、久保井 徹、原 正和. シロイヌナズナにおける His 型金属結合ペプチド AtHIRP1 の調査. 農芸化学会中部支部第153回例会 (2008 名古屋大学) 2008 年 11 月 1 日

② 水野 英則、篠田 友里、久保井 徹、原 正

和. ウンシュウミカンデハイドリンの DNA 結合に関する研究. 日本農芸化学会 2008 年度大会 [名古屋] 2008 年 3 月 28 日

③ 鹿島大樹、久保井徹、原 正和. シロイヌナズナにおける His 型金属結合ペプチドの調査. 日本農芸化学会 2008 年度大会 [名古屋] 2008 年 3 月 28 日

④ 水野英則、久保井徹、原 正和. ミカンデハイドリンの DNA 結合に関する研究. 日本農芸化学会 2007 年度大会 [東京] 2007 年 3 月 26 日

[その他]

原 正和. スタジオ解説者.

NHK サイエンス ZERO 「植物の“超”能力」
2008 年 9 月 14 日 (日) 00:00~00:44 (ETV)
本放送

2008 年 9 月 18 日 (木) 03:10~03:54 (BS2)
再放送

2008 年 9 月 19 日 (金) 19:00~19:44 (ETV)
再放送