

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（S）

研究期間：2006～2010

課題番号：18101009

研究課題名（和文）微生物と植物のペプチド性因子に関する生物有機化学的研究

研究課題名（英文）Studies of Bioorganicchemistry on Microbial and Plant Peptide Factors

研究代表者

坂神 洋次 (SAKAGAMI YOUJI)

名古屋大学大学院・生命農学研究科・教授

研究者番号：80107408

研究分野：生理活性物質化学

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：ペプチド、クオラムセンシング、枯草菌、クラバタ

1. 研究計画の概要

(1) 枯草菌のクオラムセンシングフェロモン ComX の構造決定、構造活性相関、および特異な翻訳後修飾の普遍性に関する研究。

(2) 前駆体遺伝子が明らかになっているが、実際に作用している化学構造が不明な植物ペプチドホルモンの化学構造を解明する研究。

2. 研究の進捗状況

(1) 枯草菌のペプチド性フェロモン ComX に関する研究 ①ComXR0-E-2 の構造活性相関に関する研究 ComXR0-E-2 は 5 残基からなるペプチドで、トリプトファン残基はゲラニル基で修飾されて 3 環性の構造をとっている。このトリプトファン残基以外のアミノ酸は活性に大きな寄与はしていないことを明らかにし、Phe-Trp*(Ger)-Glu が活性を示す最小単位であることも明らかにした。②ComXR0-H-1, ComXR0-C-2 の化学構造 報告されていた結果と異なり ComXR0-H-1 もゲラニル側鎖を持つことを証明した。ComXR0-C-2 の構造を合成化学的にファルネシル基で修飾されたトリプトファンが 3 環性の構造をとっていることを明らかにした。③*in vitro* ゲラニル化に関する研究 ComXR0-E-2 前駆体のカルボキシ末端 6 残基がイソプレニル転移酵素である ComQ によりゲラニル化されて成熟フェロモンになる。ComQ が認識すると思われる共通配列は見いだせなかった。そこで、前駆体を固相合成し、ComQ を過剰発現している大腸菌から膜画分を粗酵素として調整した。前駆体、粗酵素、ゲラニルピロリン酸を反応させ、質量分析により解析し、

ゲラニル化されたペプチドを検出した。

(2) 植物のペプチド性ホルモンに関する研究 ①クラバタ (CLV3)成熟ペプチドの化学構造 CLV 遺伝子は、アラビドプシスの成長点が異常になる遺伝子として見つかり、特に CLV3 はペプチドリガンドとして働いていると考えられていた。しかしながら、CLV3 から生じる成熟ペプチドの構造は不明であった。本研究では、まず CLV3 を過剰発現したアラビドプシスからカルスを誘導し、その薄層切片を調整した。これを MALDI-TOFMS で分析したところ特異的なイオンを検出し、MS-MS によりペプチドのアミノ酸配列も決定できた。このペプチドは 12 残基からなるペプチドで、2 残基のヒドロキシピロリンを含むという特徴を持っている。②気孔の分化形成に関与するペプチドホルモン 植物の気孔は、細胞一個以上離れて形成され、その分化形成には何らかの因子が関与していることが示唆されていた。我々は気孔密度を上げる活性をもつ遺伝子がコードするペプチドについて研究し、この構造を特定した。このペプチドをアラビドプシスに投与すると、気孔密度が上がり気孔が隣り合って形成されることを観察している。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(1) 枯草菌のペプチド性フェロモン ComX に関する研究に関しては、構造決定、構造活性相関の研究はほぼ終了し、特異な翻訳後修飾の普遍性に関する研究も目処がついてきた。

(2) 植物のペプチド性ホルモンに関する研

究に関しては、CLV3 成熟ペプチドの化学構造を予想外に早く決定でき、気孔密度を上げるペプチドの構造も決定できた。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 枯草菌のペプチド性フェロモン ComX に関する研究に関しては、前駆体ペプチドを種々合成し、翻訳後修飾に必要な共通アミノ酸配列を明らかにする。共通アミノ酸配列をコードする遺伝子を検索し、この特異な翻訳後修飾が、どの程度の普遍性を有するかを明らかにする。

(2) 植物のペプチド性ホルモンに関する研究に関しては、気孔密度を上げるペプチドの研究に目処がついたので、気孔密度を下げるペプチドの化学構造を明らかにする。

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 7 件)

- ① Kondo, T., Nakamura, T., Yokomine, K., Sakagami, Y. Dual assay for MCLV3 activity reveals structure-activity relationship of CLE peptides. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **377**, 312-316 (2008) 査読あり
- ② Ogawa, M., Shinohara, H., Sakagami, Y., Matsubayashi, Y. Arabidopsis CLV3 peptide directly binds CLV1 ectodomain. *Science*, 319, 294 (2008) 査読あり
- ③ Okada, M., Sato, I., Cho, S-J., D. Dubnau, D., Y. Sakagami, Y. Chemical synthesis of ComX pheromone and related peptides containing isoprenoidal tryptophan residues. *Tetrahedron*, 62, 8907-8918 (2006) 査読あり
- ④ Kondo, T., Sawa, S., Kinoshita, A., Mizuno, S., Kakimoto, T., Fukuda, H., Sakagami, Y. A plant peptide encoded by *CLV3* identified by in situ MALDI-TOF MS analysis. *Science*, 313, 845-848 (2006) 査読あり

[学会発表] (計 17 件)

- ① Sakagami Y.
Bioactive Peptides with
Posttranslational Modifications
The 4th Takeda Science Foundation Symposium
on PharmaSciences, "On the Frontiers of
Chemical Biology" Tokyo, Japan,
December 4, 2007 招待講演 査読無し

[図書] (計 4 件)

- ① 坂神洋次、岡田正弘
生物の密度と化学因子蛋白質核酸酵素、ケミカルバイオロジー、
52, No. 13, 1673-1678 (2007) 査読無し

[その他]

2006, 8/11,

NHK, テレビ、植物の成長抑制ホルモン発見
8月11日 12時20分

日本経済新聞 朝刊 13面 植物の成長抑制
ホルモン2種東大など特定

産経新聞 朝刊 25面 花粉にサヨナラ、
植物の抑制ホルモン

読売新聞 オンライン版 植物の成長制御
タンパク質発見

毎日新聞 オンライン版 植物ホルモン：
成長を抑える物質発見 東大など共同チ
ーム