

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06067・19K21191

研究課題名(和文)細胞膜結合分子PCaPを介した細胞内情報の新しい変換機構の解明

研究課題名(英文)New intracellular signal transduction mechanism by plasma membrane associated protein PCaP1

研究代表者

高田 奈月(田中奈月)(Tanaka-Takada, Natsuki)

名古屋大学・高等研究院(農)・特任助教

研究者番号：00824070

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：PCaPは、Caシグナルを脂質シグナルに変換する唯一の分子であり、所属研究室で見出され申請者が解析を進めてきた。本研究は、細胞内情報伝達の重要なハブ分子PCaPの生化学的作動機構と生理的役割を解析することを目的としている。方法として、シロイヌナズナとゼニゴケを用いたPCaP欠損株と過剰発現株の解析、大腸菌で合成したゼニゴケPCaPタンパク質の精製と生化学的性質の解析を行なった。シロイヌナズナの欠損株の解析では、PCaPが根の水分屈性に関与していることを解明した。植物の原始型で遺伝子数の少ないゼニゴケの利点を生かした研究も開始し、過剰発現株や遺伝子欠損株の形態と生育の異常を発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞膜に結合しているタンパク質PCaPは、Caシグナルを脂質シグナルに変換する唯一の分子であると想定される。細胞内情報伝達の重要なハブ分子であるPCaPの生化学的作動機構と生理的役割を明らかにすることで、Caシグナルの巾の広さと特異性を支える新たな仕組みを解明することができる。申請者は、PCaPがシロイヌナズナでは根の水分屈性および葉の気孔閉口に関与していることを明らかにし、植物の環境適応に重要な分子であることを明らかにした。また、PCaPはほとんど全ての植物に保存されている重要な遺伝子であり、植物進化の基部に位置するゼニゴケにおいても不可欠な機能を果たしているタンパク質であるとの知見を得た。

研究成果の概要(英文)：PCaP is a unique molecule that converts a Ca signal to a lipid signal. This protein was found in our laboratory and its physiological function has been analyzed by the applicant.

The purpose of this study is to analyze the physiological role and its biochemical mechanism of PCaP, which may be a hub molecule for intracellular signal transduction. First, we analyzed the PCaP KO mutants and its overexpressors using *Arabidopsis thaliana* and *Marchantia polymorpha*. Second, I also purified PCaP recombinant protein synthesized in *Escherichia coli* and analyzed its biochemical properties of the PCaP protein. Analysis of *pcap1* KO mutant of *Arabidopsis thaliana* revealed that PCaP is involved in root hydrotropism. Also, I have started a analysis to take advantage of *Marchantia polymorpha*, which is the origin of land plant and has a small number of genes. Both the KO and overexpressing lines of *M. polymorpha* showed clear morphological and growth abnormalities, suggesting the importance of PCaP1.

研究分野：植物生理学

キーワード：Caシグナル 脂質シグナル 情報変換分子

1. 研究開始当初の背景

植物は、環境情報を受感して細胞での情報伝達を引き起こし、環境に適応するための応答を起動させる。シグナル伝達には、タンパク質や脂質、核酸、植物ホルモン、 Ca^{2+} 等が複雑に関わっている。本研究では Ca^{2+} と脂質の 1 種であるホスファチジルイノシトールリン酸(PIP)と相互作用する PCaP1 に焦点を当てる。 Ca^{2+} は情報伝達イオンであり、環境刺激に応答して細胞質濃度が一過的に上昇することで Ca^{2+} 結合タンパク質が活性化され下流の標的分子の活性が調節され、病原菌、接触、乾燥、光、温度などのストレス応答、また根毛や花粉管の細胞伸長に関与している。一方、PIP は PIP_1 、 PIP_2 、 PIP_3 に分類され、それぞれ代謝的関連が密であり、PIP から生産される IP_3 とジアシルグリセロールも含めて固有の機能をもつ。PIP の相互変換には特異性の高い各種キナーゼが働く。動物および植物で相互変換酵素の解明が進み、細胞機能調節の役割が解明されつつある。

このように、カルモジュリンなどの Ca^{2+} 結合タンパク質や PIP 合成酵素など、情報伝達分子に関する研究は充実している。しかし、異なるシグナル分子・イオン間、たとえば Ca^{2+} と PIP での相互作用や情報変換に関する知見は乏しい。研究対象とする PCaP1 の N 端領域は、これら両方の因子と相互作用する能力をもち、情報変換の機能をもつものと推測され、この分子に焦点を当てる。

2. 研究の目的

本研究では、PCaP1 分子を通して、主要な情報因子である Ca^{2+} と PIP の相互情報変換ならびに細胞骨格の構築制御の生化学的、生理的機構の詳細を明らかにし、植物における新たな環境応答機構の解明と提案を目指す。PCaP1 は脂質修飾されて細胞膜に結合し、 Ca^{2+} および PIP、CaM/Ca と結合する。申請者は PCaP1 が気孔の閉口や根の水分屈性に寄与していることを見出し、作用機構の解明を進めている。今後、PCaP1 の関わる他の生理現象の特定、そして PCaP1 の機能メカニズムの解明を進めることにより、新たな発見が期待できる。PCaP1 はシロイヌナズナで同定したタンパク質であるが、コケ、イネ、ダイズ等の植物で広く保存されている。環境適応に関わる PCaP1 を介した情報変換機構を解明することで生命科学への貢献を目指す。シロイヌナズナのみでなく、生物学的にシンプルなゼニゴケも用いて機能欠損株および相互作用機能をもつ N 末端部分(ドミナントネガティブに機能する)の過剰発現株を作製し、水・光・栄養・温度ストレス環境下での表現型を詳細に分析する。さらに、変異株における Ca^{2+} 、PIP、細胞骨格の動態を野生株と比較し、PCaP1 とこれら因子との共局在性を解析し、PCaP1 の遺伝子発現の組織特異性、細胞内局在の環境依存的な変化も観察する。本研究を通して植物の発生・分化、ストレス応答における PCaP1 の生理機能と情報伝達機構を解明する。

3. 研究の方法

ゼニゴケとシロイヌナズナでの PCaP1 遺伝子欠損株を調製し、成長発達過程を通して表現型を詳細に観察する。通常条件下のみでなく、水、光、栄養、温度、病原菌などのストレスに対する変化を解析する。欠損株に PCaP1 を戻し表現型の解消を確認し、PCaP1 を原因遺伝子とする表現型として確定する。

PCaP1 の N 端 25 残基領域(ミリストイル化、PIP と Ca/CaM との相互作用をする領域)を自己プロモータおよび過剰発現プロモータ(EF1 や 35S プロモータ)で発現させたゼニゴケとシロイヌナズナ株を作製し、成長と形態に与える影響を解析する。

ゼニゴケ PCaP を大腸菌で発現させ、精製標品をもとに特異的抗体を作製し、PCaP と細胞膜やカルシウムイオン、脂質シグナル分子の結合性について解析する。

4. 研究成果

細胞膜に結合しているタンパク質 PCaP は、Ca シグナルを脂質シグナルに変換する唯一の分子であると想定される。細胞内情報伝達の重要なハブ分子である PCaP の生化学的作動機構と生理的役割を明らかにすることで、Ca シグナルの巾の広さと特異性を支える新たな仕組みを解明することができる。

方法として、シロイヌナズナとゼニゴケを用いた PCaP 欠損株と過剰発現株の解析、大腸菌で合成したゼニゴケ PCaP タンパク質の精製と生化学的性質の解析を行なった。

申請者は、PCaP がシロイヌナズナでは根の水分屈性および葉の気孔閉口に関与していることを明らかにし、植物の環境適応に重要な分子であることを明らかにした。

また、PCaP はほとんど全ての植物に保存されている重要な遺伝子であり、植物進化の基部に位

置するゼニゴケにおいても不可欠な機能を果してゐるタンパク質であるとの知見を得た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tanaka-Takada, N., Kobayashi, A., Takahashi, H., Kamiya, T., Kinoshita, T., Maeshima, M.	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Plasma membrane-associated Ca ²⁺ -binding protein PCaP1 is involved in root hydrotropism of <i>Arabidopsis thaliana</i> .	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Plant and Cell Physiol.	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/pcp/pcz042	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Uno Hiroshi, Tanaka-Takada Natsuki, Hattori Momoko, Fukuda Mayu, Maeshima Masayoshi	4. 巻 132
2. 論文標題 A cell-wall protein SRPP provides physiological integrity to the <i>Arabidopsis</i> seed	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Plant Research	6. 最初と最後の頁 145 ~ 154
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10265-018-01083-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中奈月、鶴野裕、前島正義
2. 発表標題 シロイヌナズナの種子形成における細胞壁タンパク質SRPPの生理的機能
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中奈月、小林啓恵、高橋秀幸、Liam Dolan、前島正義
2. 発表標題 細胞膜カルシウム結合分子PCaPを介した細胞内情報の新しい変換機構の解明
3. 学会等名 日本植物学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中奈月、水谷未耶、奥田慎平、西浜竜一、河内孝之、前島正義、Liam Dolan
2. 発表標題 新規情報伝達タンパク質PCaP1のメリステム形成への影響
3. 学会等名 日本植物生理学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----