

機関番号：12608

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21770037

研究課題名 (和文) 植物の環境適応におけるバクテリア型緊縮応答の果たす役割

研究課題名 (英文) Roles of bacterial stringent response, conserved in chloroplast, for plant physiology

研究代表者

増田 真二 (MASUDA SHINJI)

東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・准教授

研究者番号：30373369

研究成果の概要 (和文)：緊縮応答はもともと原核生物に普遍的に保存された遺伝子発現、タンパク質機能調節機構であるが、近年のゲノム解析の進展により、この因子が植物のゲノムに保存されていることがわかってきた。しかしその機能はほとんどわかっていない。本研究では、モデル植物シロイヌナズナを材料に、植物型緊縮応答に関する知見を得ることを目標に研究を進めた。その結果、植物の緊縮応答は、1) 葉緑体の遺伝子発現調節、2) 葉緑体の正常な形成、に重要な働きをすることがわかった。

研究成果の概要 (英文)：Stringent response is a global regulatory system controlling gene expression and protein activities in bacteria. Recent genome sequence analyses have revealed that genes encoding proteins involved in the response are conserved in plants. However, physiological functions of the plant stringent response have not been well understood.

In this study, we characterized Arabidopsis stringent factors. The results indicated that the plant-type stringent response has important roles for chloroplast development as well as transcription and translation of chloroplast genome.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・植物分子生物・生理学

キーワード：色素体機能・光合成、緊縮応答、葉緑体、遺伝子発現、シロイヌナズナ、栄養飢餓

### 1. 研究開始当初の背景

緊縮応答と呼ばれる原核生物に普遍的に見られる生理応答が葉緑体に保存されており、植物の示す様々な高次機能を調節することがわかってきた。多くの原核生物ではこの因子は必須なものであるため、植物細胞内でも重要な働きをしていると思われるが、その機能はよくわかっていない。

### 2. 研究の目的

モデル植物シロイヌナズナを材料に、植物型緊縮応答因子の解析を行い、この制御機構のメカニズムおよびその生理的機能を明らかにすることを目標に研究を進めた。

### 3. 研究の方法

シロイヌナズナのゲノムには原核生物型緊縮応答因子と相同性のあるタンパク質をコードする遺伝子が4つある (*RSH1*, *RSH2*, *RSH3*, *CRSH*)。カリフラワーモザイクウイルス由来 35S プロモーター下流にそれぞれの遺伝子を繋いだコンストラクトを、シロイヌナズナに導入することで、各遺伝子を過剰に発現する組換植物体を作成し、その植物体の解析を行った。

### 4. 研究成果

得られた組換植物体のうちの 하나가野生型に比べ薄緑色であり、クロロフィル量が大きく減少していた。この過剰発現体の解析を進めた。

電子顕微鏡を用いてこの過剰発現体の葉緑体構造を観察したところ、野生型と比べ、一細胞当たりの葉緑体数に変化は無かったが、個々の葉緑体が萎縮していることがわかった。このことから植物の緊縮応答は正常な葉緑体の発達に重要な役割を果たすことがわかった。またこの過剰発現体が薄緑色の表現型を示すのは、この葉緑体の発達不全が原因と考えられた。

次にこの過剰発現体における、葉緑体遺伝子の転写産物 (mRNA) および葉緑体遺伝子翻訳産物 (タンパク質) 量をそれぞれ、リアルタイム PCR およびウエスタンブロッティングで解析した。その結果、この過剰発現体では、葉緑体遺伝子の mRNA 量が全体的に減っていることがわかった。しかしながら、そのタンパク質量の変動は遺伝子によりばらつきが見られた。このことから、葉緑体の緊縮応答は、葉緑体ゲノム上のほとんどの遺伝子の転

写と翻訳両方を調節すること考えられた。

## 5. 主な発表論文等

(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2件)

Shinji Masuda, Rei Ikeda, Tatsuru Masuda, Haruki Hashimoto, Tohru Tsuchiya, Hiroko Kojima, Jiro Nomata, Yuichi Fujita, MMamoru Mimuro, Hiroyuki Ohta and Ken-ichiro Takamiya (2009) Prolamellar bodies formed by cyanobacterial protochlorophyllide oxidoreductase in Arabidopsis. Plant J. 58: 952-960 (査読有)

増田真二(2010) 被子植物のプラスチドで形成されるプロラメラボディーに関する新発見 生物物理 50: 36-37 (査読有)

[学会発表] (計3件)

前川未来翔、水澤一樹、太田啓之、増田真二 「バクテリア型セカンドメッセンジャー ppGppを介した葉緑体における脂肪酸合成の制御」平成22年度日本植物脂質科学研究会シンポジウム 2010. 11. 27 京都大学

前川未来翔、水澤一樹、太田啓之、増田真二 「葉緑体形成におけるシロイヌナズナ RelA/SpoT ホモログの機能解析」 2011年度

日本植物生理学会 2011. 3. 20 東北大学

Mikika Maekawa, Kazuki Mizusawa, Hiroyuki Ohta and Shinji Masuda (2009) The effects of RSH3 over-expression on thylakoid membrane biogenesis in Arabidopsis. The 3<sup>rd</sup> Asian Symposium on Plant Lipids. Nov. 27, 2009. 横浜情報文化センター

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称：貧栄養耐性植物の作出方法

発明者：増田真二、前川未来翔

権利者：東京工業大学

種類：

番号：特願 2011-49320

出願年月日：2011. 3. 7

国内外の別：国内

○取得状況 (計0件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

増田真二 (MASUDA SHINJI)

東京工業大学・バイオ研究基盤支援総合センター・准教授

研究者番号：30373369

### (2) 研究分担者

### (3) 連携研究者